

# Efecto de la incorporación de harina de pescado con distinto grado de cocción a dietas para pollos de engorda formuladas a un perfil de aminoácidos digestibles

## Effect of over processed fish meal in diet formulation for broilers according to digestible amino acid basis

Martín Manuel Terrazas Fierro<sup>a</sup>, Ernesto Ávila González<sup>b</sup>, Manuel Cuca García<sup>c</sup>, Héctor Nolasco Soria<sup>d</sup>

### RESUMEN

Formular a aminoácidos digestibles (AAD) permite incluir en la dieta ingredientes con menor calidad proteica. Se calentó (C) harina de pescado (HP) durante 0, 30, 60 y 90 min (autoclave a 121 °C y 1 kg/cm<sup>2</sup> de presión), determinando *in vivo* su digestibilidad verdadera de aminoácidos y proteína (DP). Se comparó la DP *in vivo* vs dos técnicas *in vitro*: pepsina por filtración (PF) y pepsina con ninhidrina (PN). En otro ensayo, pollitos mixtos se asignaron a uno de los siguientes tratamientos con seis repeticiones de 20 pollos cada uno, en un arreglo factorial 2 x 4, con un diseño completamente al azar. Un factor fue, el tiempo de C de la HP; el otro, formular dietas con aminoácidos totales (AAT) o AAD. El calentamiento redujo linealmente ( $P < 0.01$ ) la DV de los aminoácidos y DP. La DP se correlacionó ( $P < 0.001$ ) con PF ( $r^2 = 0.91$ ), sin mostrar correlación con la PN ( $r^2 = 0.50$ ); presentando las tres técnicas una tendencia cuadrática ( $P < 0.0001$ ) en la digestibilidad. Después de 42 días, no se encontró interacción del método de formulación x C, ni efecto del calentamiento, pero sí efecto al tipo de formulación ( $P < 0.05$ ). La ganancia de peso, consumo de alimento y mortalidad fueron similares entre métodos de formulación, con mejor eficiencia alimenticia ( $P < 0.05$ ) con AAD. Se concluye que la técnica de pepsina por filtración refleja la DP en las harinas calentadas, y formular a aminoácidos digestibles genera una mejor respuesta zootécnica en pollos de engorda.

**PALABRAS CLAVE:** Harina de pescado, Calentamiento, Pollos de engorda, Digestibilidad, Aminoácidos, Formulación.

### ABSTRACT

Digestible amino acid (DAA) basis formulation allows including low quality protein constituents in diets. In the first test, commercial fish meal (FM) was over processed by autoclaving at 121 °C and 1 kg cm<sup>-1</sup> for 0, 30, 60 and 90 min. True digestibility (TD) of amino acids (AA) and protein digestibility (PD) in FM were determined *in vivo* using a precision-feeding assay with roosters. A second *in vitro* test was carried out to determine if, either filtration pepsin (FP) or ninhydrine pepsin (NP) assays showed potential for predicting *in vivo* PD on FM. In a third test, two days old mixed chicks were distributed in eight treatments with six replicates of 20 chicks each in a randomized factorial 2 x 4 design. One factor assessed was over processed FM and total amino acid basis (TAA) or DAA formulation. Results show that true digestibility of analyzed AA and PD in FM decreased ( $P < 0.01$ ) as autoclaving time increased. FP and NP values were closely correlated ( $P < 0.05$ ) and were similar ( $P > 0.05$ ) to PD. There was no interaction effect ( $P > 0.05$ ) between FM and formulation methods. There was a significant ( $P < 0.05$ ) effect between methods of formulation. Results did not show effects on body weight, feed intake and mortality between formulation methods. A significant difference ( $P < 0.05$ ) in a better feed efficiency was observed on DAA method. It can be concluded that FP is a satisfactory technique for estimating PD, and the DAA formulation method generated better productive parameters on broiler chickens.

**KEY WORDS:** Fish meal, Over processing, Broiler chicken, Digestibility, Amino acid, Formulation.

Recibido el 10 de septiembre de 2004 y aceptado para su publicación el 18 de abril de 2005.

<sup>a</sup> Departamento de Zootecnia, Universidad Autónoma de Baja California Sur. Calle Seis No. 136, Fracc. Jardines de La Paz. 23060. La Paz, B.C.S. México. Teléfono 01-612- 125-84-46. Fax. 01-612-123-88-22. terrazas@uabcs.mx. Correspondencia al primer autor.

<sup>b</sup> Centro de Enseñanza, Investigación y Extensión en Producción Avícola, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Nacional Autónoma de México.

<sup>c</sup> Especialidad en Ganadería. Instituto de Recursos Genéticos y Productivos. Colegio de Posgraduados.

<sup>d</sup> Grupo de Nutrición Acuicola. Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste.

## INTRODUCCIÓN

Para el nutriólogo es importante contar con ingredientes de calidad en lo referente a la digestibilidad de nutrimentos, y formular dietas que expresen el máximo nivel productivo en los animales. La medición de la concentración total de aminoácidos esenciales en los ingredientes es importante para estimar la calidad proteica de los mismos, pero es insuficiente, ya que la cantidad digerida de cada aminoácido es menor a la determinada químicamente<sup>(1)</sup>. Los ingredientes proteicos de origen animal, se fabrican con distintos subproductos, por lo que presentan una gran variabilidad en su composición química<sup>(2)</sup>. El proceso de cocción con presión, se emplea en la fabricación de estas harinas proteicas con la finalidad de mejorar su calidad<sup>(3,4)</sup>. Cuando las condiciones del procesamiento (temperatura o presión) son extremas, se puede ocasionar daño en algunos nutrimentos; como se ha demostrado en aminoácidos con secuelas negativas en su digestibilidad<sup>(2)</sup>. El efecto nocivo de la temperatura en los aminoácidos, es consecuencia de la reacción de Maillard, ya que se generan nuevos compuestos indigestibles al unirse azúcares reductores con el grupo amino de los aminoácidos<sup>(5)</sup>; dependiendo de la magnitud de la reacción, parte de los aminoácidos pueden ser digeridos y absorbidos pero no se utilizan para el crecimiento<sup>(6)</sup>, provocando detrimento en el rendimiento zootécnico del animal.

La formulación a aminoácidos digestibles ha demostrado ser superior a la sustentada en aminoácidos totales, en particular cuando se emplean ingredientes de menor calidad, por presentar una baja digestibilidad en los aminoácidos de su proteína<sup>(7,8)</sup>. El presente estudio se desarrolló con el objetivo de evaluar si dos técnicas *in vitro* predicen la digestibilidad de la proteína estimada *in vivo* y medir el comportamiento zootécnico del pollo de engorda alimentado con dietas formuladas a un perfil de aminoácidos digestibles, adicionadas a niveles prácticos con harina de pescado calentada a distintos tiempos.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### *Experimento 1*

Se utilizó harina de pescado (HP) elaborada por la empresa Planta Conservera San Carlos S.A. de C.V. ubicada en la costa del pacífico, a 260 km al

## INTRODUCTION

It is important for nutritionists to have good quality ingredients with reference to nutrient digestibility, for formulation of diets capable of expressing the higher productive potential of animals. Grading total concentration of essential amino acids in diet constituents is important to estimate their protein quality, but unsatisfactory, because the digested amount of each amino acid may be lower than the estimated by chemical methods<sup>(1)</sup>. Animal proteinaceous ingredients are manufactured from different byproducts, and therefore show great variability in their chemical composition<sup>(2)</sup>. Pressure cooking is used in the manufacturing process of protein meals to improve their quality<sup>(3,4)</sup>. When processing conditions (pressure and temperature) become extreme, serious damage to some nutrients can happen, as has been shown in amino acids, with negative sequels to their digestibility<sup>(2)</sup>. This negative effect on amino acid quality is due to Maillard's reaction, because new indigestible compounds are created through union of reducing sugars with the amino component of amino acids<sup>(5)</sup>; depending on the reaction's magnitude, a fraction of the amino acids may be digested but not used for growth<sup>(6)</sup>, thus reducing the animal's zootechnical yield. Digestible amino acid basis (DAA) formulation has shown clear advantages over total amino acid formulation, especially when low quality ingredients are used, which present low protein digestibility<sup>(7,8)</sup>. The objective of present study was to assess if two *in vitro* techniques were able to predict *in vivo* estimated protein digestibility and to measure the zootechnical behavior fed with Digestible Amino Acid basis formulation diets added with fish meal processed at different time frames and at a practical level.

## MATERIALS AND METHODS

### *Experiment 1*

Fish meal manufactured by Conservera San Carlos S.A. de C.V. (located at the Pacific coast, 260 km north of La Paz, BCS) with sardine heads, spine and tail residues cooked at 85 °C and dried at 50 °C for 20 min each. The experiment was carried out through precision feeding to determine true *in vivo* digestibility<sup>(9,10)</sup> of amino acids and protein of the commercial fish meal further autoclaved at

norte de la ciudad de La Paz, B.C.S.; se elaboró con residuos de cabeza, espinazos y colas de sardina; para su cocción se utilizó una temperatura de 85 °C, mientras que en su secado se utilizaron 50 °C; la temperatura indicada en ambos procesos se aplicó por un período de 20 min. El experimento se desarrolló usando la técnica de alimentación precisa<sup>(9,10)</sup> para determinar la digestibilidad verdadera (DV) *in vivo* de aminoácidos y de la proteína en la HP comercial, calentada adicionalmente en un autoclave a 121 °C de temperatura y 1 kg/cm<sup>2</sup> de presión por 0, 30, 60 ó 90 min. Se utilizaron tres (repeticiones) con gallos adultos Leghorn por tratamiento; cada uno recibió 30 g de HP y se alojó en una jaula para colectar las excretas; cuatro gallos testigo se emplearon para colectar el material endógeno, privándolos de alimento 24 h antes del experimento, recibiendo

121 °C and 1 kg sq cm<sup>-1</sup> for 0, 30, 60 and 90 min, with three replicates of 3 Leghorn adult roosters for each treatment. Each rooster was placed in a cage and fed 30 g of fish meal and excreta collected. Four control roosters were used to collect endogenous material, not fed for 24 h prior to the experiment and having free access to water. Amino acids were graded in triplicate in both fish meal and excreta. Endogenous material was evaluated in two replicates of two roosters each. All analyses of amino acids (except for tryptophane) were carried out by the Degussa Alemania Co. by means of high resolution liquid chromatography<sup>(11)</sup>. True digestibility of each amino acid and protein was estimated through the corresponding formula<sup>(12)</sup>. Results were tested in a completely randomized design through linear models procedures. Regression analysis was

Cuadro 1. Dietas utilizadas para incorporar harina de pescado procesada en autoclave, 0 a 21 días de edad (Exp 3)

Table 1. Diets used to incorporate autoclaved fish meal, 0 to 21 d of age (Exp 3)

Ingredients (%)	Autoclaving time (min)							
	0		30		60		90	
	T	D	T	D	T	D	T	D
Maize	59.50	59.56	59.53	59.55	59.51	59.50	59.51	59.53
Soybean meal	28.38	28.37	28.36	28.35	28.38	28.38	28.39	28.38
Fish meal	6.00	6.00	6.00	6.00	6.00	6.00	6.00	6.00
Soybean oil	2.83	2.81	2.83	2.82	2.83	2.83	2.83	2.82
Others <sup>a</sup>	3.11	3.11	3.11	3.11	3.11	3.11	3.11	3.11
DL-Methionine	0.18	0.15	0.18	0.16	0.17	0.17	0.17	0.16
Calculated composition:								
Crude protein %	22.00	22.00	22.00	22.00	22.00	22.00	22.00	22.00
EM Mcal/kg.	3.05	3.05	3.05	3.05	3.05	3.05	3.05	3.05
Lysine total, %	1.23	1.23	1.23	1.23	1.23	1.24	1.25	1.25
Lysine digestible, %	1.11	1.10	1.10	1.10	1.09	1.10	1.10	1.10
Methionine total, %	0.50	0.41	0.49	0.45	0.50	0.43	0.50	0.42
Methionine digestible, %	0.47	0.38	0.46	0.39	0.46	0.39	0.46	0.38
Cystine total, %	0.40	0.44	0.40	0.45	0.40	0.45	0.40	0.45
Cystine digestible, %	0.35	0.39	0.34	0.39	0.33	0.38	0.33	0.39
Met + Cys, %	0.90	0.88	0.90	0.87	0.89	0.87	0.90	0.89
Met + Cys digestible, %	0.82	0.78	0.80	0.78	0.79	0.77	0.79	0.77
Threonine total, %	0.85	0.85	0.85	0.85	0.86	0.86	0.87	0.87
Threonine digestible, %	0.76	0.76	0.75	0.75	0.75	0.75	0.76	0.76
Ca y P (available) <sup>b</sup>								

T = TAA formulation<sup>(8)</sup>; D = DAA formulation averaging digestible amino acid requirements for both sexes<sup>(15)</sup>.

<sup>a</sup> Indicates vitamins and minerals per feed kilogram: A (8000 IU); D<sub>3</sub> (5000 IU); E, (3.3 IU); B<sub>12</sub> (10 mg); riboflavin (7 mg); K<sub>3</sub> (1.7 mg); niacin (17 mg); Ca pantothenate (6.6 mg); Choline chloride (167 mg). Minerals: zinc (67 mg); iron (55 mg); copper (4 mg); manganese (67 mg); iodine (0.6 mg); selenium (0.15 mg.); salt, Ca carbonate and orthophosphate.

<sup>b</sup> In accordance with recommendations<sup>(9)</sup>.

agua a libre acceso. Se analizó por triplicado el contenido de aminoácidos en las HP calentadas y en las excretas. El material endógeno se analizó en dos réplicas, con el material de dos gallos cada una. Los análisis de aminoácidos (excepto triptófano) en los ingredientes fueron realizados por la compañía Degussa Alemania, empleando cromatografía líquida de alta resolución<sup>(11)</sup>. La digestibilidad verdadera (DV) de cada aminoácido y de la proteína se calculó con la fórmula correspondiente<sup>(12)</sup>. Los resultados se analizaron con un diseño completamente al azar, con el procedimiento de modelos lineales generales; se empleó un análisis de regresión para estimar la tendencia en la DV de los aminoácidos y de la proteína, para generar así las respectivas ecuaciones de predicción, usando el paquete estadístico SAS<sup>(13)</sup>.

practiced to estimate true digestibility in amino acids and protein in order to determine the corresponding prediction equations, with the SAS software<sup>(13)</sup>.

### Experiment 2

Two *in vitro* techniques were used to determine protein digestibility. Three replicates of fish meal, autoclaved for 0, 30, 60 and 90 min at 121 °C were used for this test. In the filtration pepsin technique<sup>(11)</sup> the recommended enzyme concentration was used<sup>(1)</sup>, in the ninhydrine pepsin test<sup>(14)</sup> a 30 min incubation period at 37 °C with a 6 mg ml<sup>-1</sup> pepsin concentration was used. At the end of the incubation period, the enzyme was deactivated at 100 °C for 5 min. Free alpha amino groups were quantified

Cuadro 2. Dietas utilizadas para incorporar harina de pescado procesada en el autoclave, 22 a 35 días de edad (Exp 3)  
Table 2. Diets used to incorporate autoclaved fish meal, 22 to 35 d of age (Exp 3)

	Autoclaving time (min)							
	0		30		60		90	
Ingredientes (%)	T	D	T	D	T	D	T	D
Maize	67.49	68.04	67.52	67.47	67.50	67.44	67.51	67.46
Soybean meal	20.66	18.78	20.44	19.24	20.57	19.69	19.79	19.02
Sesame meal	4.34	6.27	4.56	5.88	4.43	5.41	5.28	6.13
Fish meal	4.00	4.00	4.00	4.00	4.00	4.00	4.00	4.00
Soybean oil	0.83	0.59	0.82	0.80	0.82	0.82	0.80	0.79
Others <sup>a</sup>	2.66	2.29	2.65	2.58	2.65	2.60	2.60	2.56
DL-Methionine	0.02	0.03	0.01	0.04	0.01	0.04	0.004	0.03
Calculated composition:								
Crude protein %	20.00	20.00	20.00	20.00	20.00	20.00	20.00	20.00
EM Mcal/kg.	3.05	3.05	3.05	3.05	3.05	3.05	3.05	3.05
Lysine total, %	1.00	0.97	1.00	0.98	1.00	0.95	1.00	0.99
Lysine digestible, %	0.90	0.87	0.89	0.87	0.88	0.87	0.88	0.87
Methionine total, %	0.37	0.38	0.38	0.38	0.38	0.38	0.38	0.39
Methionine digestible, %	0.35	0.32	0.34	0.32	0.34	0.32	0.35	0.32
Cystine total, %	0.33	0.35	0.34	0.37	0.33	0.36	0.34	0.36
Cystine digestible, %	0.28	0.33	0.28	0.33	0.27	0.33	0.28	0.33
Met + Cys, %	0.71	0.74	0.72	0.75	0.71	0.75	0.72	0.75
Met + Cys digestible, %	0.63	0.65	0.63	0.65	0.68	0.65	0.63	0.65
Treonine total, %	0.76	0.75	0.76	0.76	0.76	0.76	0.77	0.77
Treonine digestible, %	0.67	0.67	0.67	0.67	0.67	0.67	0.68	0.67
Ca, P (available) <sup>b</sup>								

T = TAA formulation<sup>(8)</sup>; D = DAA formulation averaging digestible amino acid requirements for both sexes<sup>(15)</sup>.

<sup>a</sup> Indicates vitamins and minerals per feed kilogram: A (6500 UI); D<sub>3</sub> (4000 UI); E (3.3 UI); B<sub>12</sub> (8 mg); riboflavin (5 mg); K<sub>3</sub> (1.3 mg); niacin (13 mg); Ca pantothenate (5.3 mg); Choline chloride (133 mg); zinc (53 mg); iron (44 mg); copper (3.2 mg); manganese (53 mg); iodine (0.5 mg); selenium (0.12 mg); salt, Ca carbonate and orthophosphate.

<sup>b</sup> In accordance with recommendations<sup>(9)</sup>.

*Experimento 2*

Se usaron dos técnicas *in vitro* para determinar la digestibilidad de proteína, con tres réplicas de las HP calentadas en el autoclave por 0, 30, 60 y 90 min. En la técnica de pepsina por filtración<sup>(11)</sup>, se usó la concentración de enzima recomendada<sup>(1)</sup>; en la técnica de pepsina por el método de ninhidrina<sup>(14)</sup>, se emplearon 30 min de incubación a una temperatura de 37 °C, con una concentración de pepsina de 6 mg/ml, al final de la incubación la enzima se inactivó a 100 °C por 5 min. Se cuantificó a los grupos alfa amino liberados por medio de absorbancia a 570 nm (espectrofotómetro Espectronic 2000). El análisis de varianza se realizó

through absorbancy at 570 nm (Espectronic 2000 spectrophotometer). The variance analysis was performed with the aid of the SAS<sup>(13)</sup> software through the general linear models procedures, with the classifying model digestibility = cooking time. To determine protein digestibility trends for effects of temperature, orthogonal polynomials were used and also Tukey's test to compare averages with the aid of the SAS software<sup>(16)</sup>.

*Experimental diets*

Crude protein was determined in triplicate through the micro Kjeldahl method in all ingredients<sup>(11)</sup>, and amino acid digestibility from tables and

Cuadro 3. Dietas utilizadas para incorporar harina de pescado procesada en autoclave, 36 a 42 días de edad (Exp 3)

Table 3. Diets used to incorporate autoclaved fish meal, 36 to 42 d of age (Exp 3)

	Autoclaving time (min)							
	0		30		60		90	
Ingredientes (%)	T	D	T	D	T	D	T	D
Maize	74.69	71.93	76.07	73.17	72.36	72.55	72.65	67.46
Soybean meal	17.92	15.64	18.11	16.46	16.84	16.51	11.47	19.02
Sesame meal	1.29	6.35	----	4.25	4.67	4.79	10.02	6.13
Fish meal	2.66	2.66	2.66	2.66	2.66	2.66	2.66	2.66
Soybean oil	0.70	1.00	0.47	0.87	0.97	0.95	0.86	0.79
Others <sup>a</sup>	2.73	2.42	2.66	2.55	2.51	2.52	2.24	2.56
DL-Methionine	0.006	----	0.03	0.03	----	0.01	----	0.03
L-Lysine-HCl	----	----	0.003	0.001	----	----	0.09	----
L-Threonine	----	----	----	----	----	----	----	0.02
Calculated composition:								
Crude protein %	17.14	18.00	16.80	17.60	17.88	17.80	17.70	17.24
EM Mcal/kg.	3.05	3.05	3.05	3.05	3.05	3.05	3.05	3.05
Lysine total, %	0.85	0.83	0.85	0.84	0.85	0.84	0.85	0.83
Lysine digestible, %	0.76	0.74	0.75	0.74	0.75	0.74	0.75	0.74
Methionine total, %	0.31	0.35	0.31	0.36	0.34	0.35	0.32	0.37
Methionine digestible, %	0.29	0.32	0.28	0.32	0.31	0.32	0.29	0.34
Cystine total, %	0.30	0.31	0.29	0.31	0.31	0.31	0.30	0.32
Cystine digestible, %	0.24	0.26	0.24	0.25	0.25	0.25	0.24	0.26
Met + Cys, %	0.61	0.67	0.60	0.66	0.65	0.66	0.63	0.69
Met + Cys digestible, %	0.53	0.58	0.52	0.57	0.56	0.57	0.54	0.60
Treonine total, %	0.65	0.68	0.64	0.68	0.68	0.68	0.67	0.67
Treonine digestible, %	0.58	0.60	0.56	0.59	0.59	0.59	0.59	0.58
Ca, P (available) <sup>b</sup>								

T = TAA formulation<sup>(8)</sup>; D = DAA formulation averaging digestible amino acid requirements for both sexes<sup>(15)</sup>.

<sup>a</sup> Indicates vitamins and minerals per feed kilogram: A (6500 UI); D<sub>3</sub>, (4000 UI); E (3.3 UI); B<sub>12</sub> (8 mg); riboflavin (5 mg); K<sub>3</sub> (1.3 mg); niacin (13 mg); Ca pantothenate (5.3 mg); Choline chloride (133 mg); zinc (53 mg); iron (44 mg); copper (3.2 mg); manganese (53 mg); iodine (0.5 mg); selenium (0.12 mg); salt, Ca carbonate and orthophosphate.

<sup>b</sup> In accordance with recommendations<sup>(9)</sup>.

con la ayuda del paquete estadístico SAS<sup>(13)</sup> por medio del procedimiento de modelos lineales generales, con el siguiente modelo clasificatorio, digestibilidad = tiempo de cocción. Para la determinación de tendencias en la digestibilidad de la proteína por efecto del calentamiento se utilizaron polinomios ortogonales, y se empleó la prueba de Tukey para la comparación de medias usando el paquete estadístico mencionado<sup>(13)</sup>.

### Experimento 3

En una prueba de crecimiento de 42 días, se utilizaron 960 pollos mixtos de dos días de edad, con un diseño completamente al azar, en un arreglo factorial 2 x 4, con seis réplicas de 20 aves cada una, siendo los factores el tiempo de calentamiento de la HP, y dos métodos de formulación, aminoácidos totales (AAT)<sup>(8)</sup> y aminoácidos digestibles (AAD)<sup>(15)</sup>. El análisis se realizó con ayuda del paquete estadístico SAS<sup>(13)</sup> por medio del procedimiento de modelos lineales generales. Los criterios de respuesta evaluados fueron el peso corporal, consumo de alimento, eficiencia alimenticia y mortalidad general. Los datos generados en cada

publicada<sup>(17)</sup>. Practical diets were formulated incorporating autoclaved fish meal (0, 30, 60 and 90 min) in three stages in accordance to chicken age, 0-21 d, 22-35 d and 36-42 d (Tables 1,2,3).

## RESULTS

### Experiment 1

Table 4 shows the true *in vivo* digestibility of amino acids and of protein of autoclaved fish meal. Average amino acid digestibility was more than 93 %, and of protein, 95.9 %. Prediction coefficients and equations obtained for essential amino acids and protein are shown also in Table 4, with a  $r^2$  of 0.98. A negative linear effect ( $P < 0.05$ ) was found for amino acids as autoclaving time increased. In the case of proteins, a quadratic effect was seen on digestibility as autoclaving time increased ( $P < 0.0001$ ), averages of the *in vivo* test showed an inflexion point at 68.7 % ( $P < 0.05$ ).

Methionine, cystine, lysine, threonine, valine, hystidine and phenylalanine digestibility in the 30 min treatment was 8.4, 17.2, 6.3, 7.1, 6.6, 9.8, and 7.0 %, respectively, when compared to the 0

Cuadro 4. Coeficientes de digestibilidad verdadera (%) de aminoácidos y proteína en la harina de pescado calentada a distintos tiempos en autoclave (Exp 1)\*

Table 4. True digestibility coefficients (%) for amino acids and protein in fish meal autoclaved in different times (Exp 1)\*

Amino acid	Autoclaving time (min)				Regression**	$r^2$	Prob.
	0	30	60	90			
Methionine	96.2 <sup>a</sup>	87.8 <sup>b</sup>	86.7 <sup>b</sup>	86.5 <sup>b</sup>	Y = 93.8 - 0.99x	0.63	0.018
Cystine	94.6 <sup>a</sup>	77.4 <sup>b</sup>	72.8 <sup>b</sup>	69.5 <sup>b</sup>	Y = 90.6 - 2.67x	0.82	0.002
Met + Cys	96.4 <sup>a</sup>	85.5 <sup>b</sup>	81.4 <sup>b</sup>	82.5 <sup>b</sup>	Y = 93.3 - 1.53x	0.67	0.013
Lysine	95.6 <sup>a</sup>	89.3 <sup>b</sup>	86.8 <sup>b</sup>	85.9 <sup>b</sup>	Y = 94.3 - 1.07x	0.84	0.001
Threonine	96.8 <sup>a</sup>	89.7 <sup>b</sup>	86.8 <sup>b</sup>	88.0 <sup>b</sup>	Y = 94.7 - 0.98x	0.65	0.016
Arginine	93.4 <sup>a</sup>	87.1 <sup>ab</sup>	81.7 <sup>bc</sup>	76.6 <sup>c</sup>	Y = 92.5 - 1.59x	0.85	0.001
Isoleucine	96.8 <sup>a</sup>	91.1 <sup>ab</sup>	88.8 <sup>b</sup>	86.5 <sup>b</sup>	Y = 95.8 - 1.11x	0.76	0.005
Leucine	97.0 <sup>a</sup>	91.9 <sup>ab</sup>	89.8 <sup>ab</sup>	87.1 <sup>b</sup>	Y = 96.2 - 1.06x	0.76	0.005
Valine	95.8 <sup>a</sup>	89.2 <sup>b</sup>	83.7 <sup>c</sup>	83.5 <sup>c</sup>	Y = 94.4 - 1.37x	0.85	0.001
Hystidine	96.2 <sup>a</sup>	86.4 <sup>b</sup>	83.1 <sup>b</sup>	83.0 <sup>b</sup>	Y = 93.6 - 1.43x	0.70	0.009
Phenylalanine	94.0 <sup>a</sup>	87.0 <sup>b</sup>	84.6 <sup>b</sup>	85.6 <sup>b</sup>	Y = 91.9 - 0.91x	0.68	0.012
Protein	95.9 <sup>a</sup>	85.9 <sup>b</sup>	81.5 <sup>c</sup>	82.7 <sup>c</sup>	Y=95.9-0.425x+0.003x <sup>2</sup>	0.98	0.0001

\* Three replicates average; Prob. = probability.

\*\* Significant effect owing to autoclaving time.

<sup>abc</sup> Different letters in the same line indicate significant differences ( $P < 0.05$ ).

una de las variables descritas fueron estudiados por medio de un análisis de varianza, y cuando hubo diferencia significativa se realizó su comparación con la prueba de Tukey<sup>(13)</sup>, el porcentaje de mortalidad se transformó con la función arcoseno raíz cuadrada de la proporción antes de su análisis<sup>(16)</sup>.

*Dietas experimentales*

Se determinó por triplicado la proteína cruda (método micro Kjeldahl) en los ingredientes<sup>(11)</sup>, la digestibilidad de aminoácidos de los mismos (excepto en las HP) se obtuvieron de acuerdo a los datos publicados<sup>(17)</sup>. Se formularon dietas de tipo práctico incorporando las HP procesadas en el autoclave (0, 30, 60 y 90 min) en tres etapas de acuerdo a la edad de los pollos, 0 a 21, 22 a 35, y 36 a 42 días (Cuadros 1,2,3).

**RESULTADOS**

*Experimento 1*

En el Cuadro 4 se presenta la DV de aminoácidos y proteína medida *in vivo* en las HP calentadas en el autoclave. Los porcentajes de digestibilidad promedio de todos los aminoácidos estudiados en la harina testigo fueron superiores al 93 %, siendo la digestibilidad de la proteína de 95.9 %; también se muestran los coeficientes de determinación de las ecuaciones de predicción obtenidas para los aminoácidos esenciales y proteína, siendo la r<sup>2</sup> de ésta última de 0.98. Se encontró un efecto lineal negativo ( $P < 0.01$ ) en la digestibilidad de los aminoácidos conforme se incrementó el tiempo de cocción en el autoclave. En el caso de la proteína se

min treatment; while arginine, isoleucine and leucine showed no difference. The 60 min treatment when compared to the 0 min, showed differences ( $P < 0.05$ ) in digestibility for all amino acids except leucine, being 1.8, 13.1, 12.1, 11.7, 10.0, 9.5, 9.4, 8.8 and 8.0 % less for hystidine, valine, arginine, threonine, methionine, phenylalanine, lysine and isoleucine, respectively. Between the 90 and 0 min treatments digestibility was lower only for valine (5.5 %), being the rest similar ( $P < 0.05$ ). No differences were found between the 30 and 60 min and between 30, 60 and 90 min treatments for methionine, cystine, lysine, threonine, isoleucine, leucine, hystidine and phenylalanine. Arginine showed differences in digestibility between 30 and 90 min ( $P < 0.05$ ), but not between 60 and 90 min, valine showed differences ( $P < 0.05$ ) between 60 and 30 min, but not between 60 and 90 min. Average *in vivo* protein digestibility was different ( $P < 0.05$ ) between the 0 (95.9 %), 30 (85.9 %), 60 (81.5 %) and 90 min (82.7 %) treatments, showing no differences between the 60 and 90 min treatments, differing these last two from the 30 min treatment ( $P < 0.05$ ).

*Experiment 2*

Average true digestibility measured in the ninhydrine pepsin assays was 96.9, 93.9, 79.8 and 30.7 % for the 0, 30, 60 and 90 min treatments, respectively. No differences showed between 0, 60 and 90 min, but were significant ( $P < 0.05$ ) between these treatments and that of 90 min. True digestibility determined through the filtration pepsin assay for the 0, 30, 60 and 90 min treatments was 96.5, 89.3, 88.3 and 88.3 %, respectively (Table 5).

Cuadro 5. Medias de proteína digestible (%) medida con dos técnicas *in vitro* en la harina de pescado procesada en autoclave (Exp 2)\*

Table 5. Digestible protein averages (%) for two *in vitro* methods for autoclaved fish meal (Exp 2)\*

Method	Autoclaving time (min)				Quadratic Regression**	r <sup>2</sup>
	0	30	60	90		
NP	96.5 <sup>a</sup>	93.9 <sup>a</sup>	79.8 <sup>a</sup>	30.7 <sup>b</sup>	Y = 95.4 - 0.453x - 0.0129x <sup>2</sup>	0.88
FP	96.9 <sup>a</sup>	89.3 <sup>b</sup>	88.3 <sup>b</sup>	83.3 <sup>c</sup>	Y = 97.3 - 0.461x + 0.00408x <sup>2</sup>	0.96
Average	96.7	91.6	84.05	57.0		

\*Three replicates average. \*\* Significant quadratic effect for autoclaving time ( $P < 0.0001$ ).

NP = Ninhydrine pepsin; FP = filtration pepsin.

<sup>abc</sup> Different letters in the same line indicate significant differences ( $P < 0.05$ ).

observó un efecto cuadrático ( $P < 0.0001$ ) sobre su digestibilidad al incrementarse el tiempo de cocción; las medias de DP medida *in vivo*, presentaron su punto de inflexión en un valor de 68.7 %.

La digestibilidad de la metionina, cistina, lisina, treonina, valina, histidina y fenilalanina en 30 min, bajó ( $P < 0.05$ ) con respecto a 0 min en un 8.4, 17.2, 6.3, 7.1, 6.6, 9.8 y 7.0 %, respectivamente; sin diferencias en arginina, isoleucina y leucina. En 60 min, se detectó diferencia ( $P < 0.05$ ) con respecto a 0 min en la digestibilidad de todos los aminoácidos, excepto en leucina; con una reducción en puntos porcentuales en la digestibilidad de cistina, de 1.8; histidina, 13.1; valina, 12.1; arginina, 11.7; treonina, 10.0; metionina, 9.5; fenilalanina, 9.4; lisina, 8.8; e isoleucina, 8.0. Al comparar 90 min con 0 min, la digestibilidad (%) fue menor ( $P < 0.05$ ) en todos los aminoácidos, con una reducción en metionina de 9.7; cistina, 25.1; lisina, 9.7; treonina, 10; arginina, 16.8; isoleucina, 10.3; leucina, 9.9; valina, 12.3; histidina, 13.2, y fenilalanina, con 8.4 puntos menos. Al comparar 30 min vs 60 min, no hubo diferencia entre aminoácidos; excepto en valina

Results between the 0 min and the other treatments showed differences ( $P < 0.05$ ), no differences between the 60 and 90 min treatments and again differences ( $P < 0.05$ ) between 30 and 60 min with the 90 min treatment. Results of the trends determined with both *in vivo* assays, analyzed through orthogonal polynomials indicated that in both techniques a significant quadratic effect ( $P < 0.0001$ ) was present for fish meal autoclaving time on protein digestibility. The determination coefficients for prediction equations obtained, being  $r^2$  for NP and FP 0.98 and 0.96, respectively. True digestibility averages for FP and NP showed their inflexion points at 56.5 and 17.56 %, respectively. Protein digestibility determined both *in vivo* and *in vitro* showed significant correlation ( $P < 0.0001$ ) for the FP assay,  $r^2 = 0.915$ , but, no correlation ( $r^2 = 0.501$ ) was found for NP with *in vivo* true digestibility ( $P < 0.097$ ).

### Experiment 3

After 42 d, results of chicken productive variables (Table 6), showed that no interaction took place between formulation methods and autoclaving times

Cuadro 6. Respuesta de pollos a los 42 días de edad a dietas adicionadas con harina de pescado procesada en el autoclave (Exp 3)

Table 6. Response of 42 d old broilers to diets added with autoclaved fish meal (Exp 3)

Formulation criteria	Autoclaving time (min)	Weight gain (g)	Accumulated intake (g)	Feeding efficiency (gain/intake)	Mortality (%)
Total	0	2204 <sup>a</sup>	4073 <sup>a</sup>	0.5411 <sup>a</sup>	2.50 <sup>a</sup>
Amino acids (TAA)	30	2154 <sup>a</sup>	4198 <sup>a</sup>	0.5131 <sup>a</sup>	1.66 <sup>b</sup>
	60	2286 <sup>b</sup>	4308 <sup>a</sup>	0.5306 <sup>a</sup>	5.00 <sup>c</sup>
	90	2219 <sup>ab</sup>	4348 <sup>a</sup>	0.5103 <sup>a</sup>	4.16 <sup>d</sup>
	Average	2215 <sup>A</sup>	4232 <sup>A</sup>	0.5237 <sup>A</sup>	3.33 <sup>A</sup>
Digestible Amino acids (DAA)	0	2254 <sup>a</sup>	4124 <sup>a</sup>	0.5465 <sup>a</sup>	4.16 <sup>a</sup>
	30	2250 <sup>a</sup>	4063 <sup>a</sup>	0.5537 <sup>a</sup>	4.16 <sup>a</sup>
	60	2246 <sup>a</sup>	4210 <sup>a</sup>	0.5334 <sup>a</sup>	1.66 <sup>b</sup>
	90	2246 <sup>a</sup>	4265 <sup>a</sup>	0.5266 <sup>a</sup>	3.33 <sup>c</sup>
	Average	2249 <sup>A</sup>	4165 <sup>A</sup>	0.5400 <sup>B</sup>	3.33 <sup>A</sup>
	SE	0.0093	0.0350	0.0052	

TAA = Total amino acids basis requirements<sup>(8)</sup>.

DAA = formulation averaging digestible amino acid requirements for both sexes<sup>(15)</sup>.

Without effect due to formulation x autoclaving time ( $P > 0.05$ ). SE= Standard error.

<sup>ab</sup> Different letters in the same treatments of each formulation method and column indicate significant differences ( $P < 0.05$ ).

<sup>AB</sup> differences between formulation methods ( $P < 0.05$ ).



( $P < 0.05$ ) con 5.5 % menos. No hubo diferencias entre 60 y 90 min; y tampoco entre 30, 60 y 90 min en la digestibilidad de metionina, cistina, lisina, treonina, isoleucina, leucina, histidina y fenilalanina. Arginina fue igual en 30 y 60 min, pero diferente ( $P < 0.05$ ) entre 30 y 90 min; en valina se presentó una diferencia ( $P < 0.05$ ) entre 30 y 60 min, pero similar entre 60 y 90 min. La digestibilidad promedio de la proteína medida *in vivo* fue diferente ( $P < 0.05$ ) en el tratamiento 0 min (95.9 %) a lo encontrado en 30 min (85.9 %), 60 (81.5 %) y 90 min (82.7 %); sin diferencia entre los tratamientos de 60 y 90 min; siendo éstos dos últimos distintos ( $P < 0.05$ ) al tratamiento de 30 min.

### Experimento 2

La DP promedio medida con PN, fue de 96.9, 93.9, 79.8 y 30.7 % en 0, 30, 60 y 90 min, respectivamente. No hubo diferencia entre 0, 30 y 60 min, pero sí ( $P < 0.05$ ) entre los tres tratamientos anteriores y el de 90 min. La DP medida con la técnica PF en 0, 30, 60 y 90 min, fue de 96.5, 89.3, 88.3 y 83.3 %, respectivamente (Cuadro 5). Esos resultados fueron diferentes ( $P < 0.05$ ) entre el tratamiento 0 min y los restantes; sin diferencia entre los tratamientos de 30 y 60 min; presentando diferencia ( $P < 0.05$ ) en 30 y 60 min, con respecto a 90 min. Los resultados de las tendencias en las medias de DP medida con las dos técnicas *in vitro* (PF y PN) determinadas por medio de polinomios ortogonales, indicaron que, en las dos técnicas evaluadas se presentó un efecto cuadrático significativo ( $P < 0.0001$ ) del tiempo de cocción de la HP en el autoclave, sobre la digestibilidad de la proteína; se presentan los coeficientes de determinación de las ecuaciones de predicción obtenidas, siendo la  $r^2$  de PN de 0.88 y para PF de 0.96. Las medias de DP medidas con la técnica PF y la técnica PN, presentaron un punto de inflexión de 56.5 y 17.5 %, respectivamente. La digestibilidad de la proteína medida *in vivo* e *in vitro*, indicaron que, la técnica de PF tuvo una correlación ( $r^2 = 0.915$ ) significativa ( $P < 0.0001$ ) con la técnica de DP *in vivo*. En cambio, la técnica de PN, no correlacionó ( $r^2 = 0.501$ ) con la DP ( $P < 0.097$ ) medida *in vivo*.

### Experimento 3

Después de 42 días, los resultados (Cuadro 6) de las variables productivas del pollo, indicaron que

( $P < 0.05$ ). When the main effects of formulation methods and autoclaving times are analyzed, only ( $P < 0.05$ ) effect on formulation method was found. In broilers fed with total amino acid basis (TAA) formulations weight gain was similar for TAA<sub>0</sub>, TAA<sub>30</sub> and TAA<sub>90</sub>, showing differences ( $P < 0.05$ ) between TAA<sub>60</sub> with TAA<sub>30</sub> and TAA<sub>0</sub>. No differences were found in feed intake and feeding efficiency between AAT treatments. Mortality showed differences ( $P < 0.05$ ) between TAA treatments. No differences were found for body weight, feed intake and feeding efficiency between Digestible amino acid basis (DAA) formulations, and in mortality between DAA<sub>0</sub> and DAA<sub>30</sub>, but showed differences for mortality between DAA<sub>60</sub> and DAA<sub>90</sub> ( $P < 0.05$ ), being both different from DAA<sub>0</sub> and DAA<sub>30</sub>. Effects on formulation type showed that weight gain, feed intake and mortality were similar for both DAA and TAA. In feeding efficiency, a favorable difference ( $P < 0.05$ ) was found for DAA.

## DISCUSSION

### Experiment 1

True *in vivo* digestibility determined for autoclaved fish meal was higher than what is mentioned in literature<sup>(1,9,17)</sup>. This could be due, to the fact that the fish meal used in this study was prepared in better temperature conditions than other fish meals<sup>(18,19)</sup>. The lower digestibility shown in overheated amino acids<sup>(1)</sup> is consistent with results of the present study, where longer autoclaving periods showed a lower digestibility, and concurs with what is seen in heated animal protein ingredients<sup>(3,20)</sup>. This is a consequence of Maillard's reaction, because of damages in the amino acid chain which reduce hydrolysis, by digestive enzymes<sup>(21)</sup>, and therefore protein digestibility.

Lysine and cystine are very susceptible to damage due to high temperature<sup>(22)</sup>. In the present study, a decrease in digestibility was observed in lysine in overheated fish meals relative to control. However, lysine digestibility was higher than arginine, cystine, hystidine and valine digestibility, in accordance with data from another study<sup>(23)</sup>, even that lysine is supposed to be the most heat sensitive amino acid<sup>(24)</sup> due to a free epsilon-amino group<sup>(25)</sup> in its molecule.

no hubo interacción entre métodos de formulación x tiempo de cocción ( $P > 0.05$ ). Al estudiar los efectos principales de los métodos de formulación y tiempo de cocción, sólo se encontró efecto ( $P < 0.05$ ) al tipo de formulación. En los pollos alimentados con AAT, la ganancia de peso fue similar en AAT0, AAT30 y AAT90, siendo AAT60 diferente ( $P < 0.05$ ) a AAT0 y AAT30. Sin diferencias en consumo de alimento y eficiencia alimenticia entre tratamientos en AAT. La mortalidad fue diferente ( $P < 0.05$ ) entre los tratamientos de AAT. No hubo diferencia entre tratamientos en AAD en peso corporal, consumo de alimento y eficiencia alimenticia; en la mortalidad de AAD, no hubo diferencia entre AAD0 y AAD30, con diferencia ( $P < 0.05$ ) entre AD60 y AD90, siendo ambos diferentes ( $P < 0.05$ ) a AD0 y AD30. El efecto al tipo de formulación, mostró que la ganancia de peso, consumo de alimento y la mortalidad fueron similares en AAT y AAD. En la eficiencia alimenticia, se encontró una diferencia ( $P < 0.05$ ) entre ambos métodos de formulación, siendo ésta favorable para ADD.

## DISCUSIÓN

### *Experimento 1*

La DV de los aminoácidos medida *in vivo* en las HP calentadas en el autoclave fue superior a lo reportado en la literatura<sup>(1,9,17)</sup>. Esto se debe tal vez a que la harina de pescado empleada en el presente trabajo, fue fabricada en condiciones térmicas más favorables a las utilizadas en otras harinas<sup>(18,19)</sup>. Se induce una menor digestibilidad en los aminoácidos por el calentamiento excesivo de los ingredientes<sup>(1)</sup>; esto es consistente con los resultados del presente experimento, en donde a mayor tiempo de cocción se presentó una menor digestibilidad en los aminoácidos; lo que concuerda con lo observado en ingredientes proteicos calentados de origen animal<sup>(3,20)</sup>. Esto es consecuencia de la reacción de Maillard, ya que se genera un daño en la cadena de aminoácidos, con una menor hidrólisis por las enzimas digestivas<sup>(21)</sup> reduciendo su digestibilidad.

La lisina y la cistina, son aminoácidos muy susceptibles al daño térmico<sup>(22)</sup>; en el presente experimento se

In contrast cystine was very heat sensitive as reported by other authors<sup>(22,26)</sup>, cystine digestibility was the most affected by fish meal overheating. Also, the lower digestibility shown by other amino acids, concurs with what is reported by other authors<sup>(20,27)</sup>.

### *Experiment 2*

Correlation analysis between true digestibility and both *in vitro* assays showed strong correlation between the FP technique and *in vivo* true digestibility findings. This result is in accordance with recommendations<sup>(28)</sup> for estimating ingredients of animal origin. True digestibility determined through NP did not show correlation with *in vivo* true digestibility findings, protein digestibility in fish meal autoclaved for 90 min showed lower values than those determined *in vivo*, so this technique should be further studied to grade protein quality in ingredients of animal origin subject to longer heating periods.

### *Experiment 3*

A more uniform response was found in productive yield of broilers fed with DAA basis diets, and higher than for TAA basis formulated diets. These data are similar to those reported in another study<sup>(29)</sup>; on the other hand, no effect on formulation basis was found on feed efficiency in broilers<sup>(30,31)</sup>. Damage due to heat in protein ingredients has provoked a negative response in growth in birds fed with TAA basis formulated diets<sup>(31,32)</sup>. The favorable response observed in birds fed with DAA basis formulated diets concurs with what has been reported when lower quality protein ingredients are used<sup>(7,8)</sup>. DAA basis formulated diets have been assessed in broiler commercial production<sup>(33)</sup>, and have shown advantages over TAA basis formulated diets<sup>(8)</sup>. DAA basis formulated diets continue being studied as a nutritional tool to optimize the balance among amino acids in diets<sup>(34,35)</sup>. In conclusion, DAA basis formulated diets induce a more uniform productive response in broilers.

## CONCLUSIONS AND IMPLICATIONS

The filtration pepsin technique predicted reliably *in vivo* protein digestibility; on the other hand, diet formulation on a DAA basis is a useful tool to

observó un decremento en la digestibilidad de la lisina en las harinas tratadas con calor con respecto a la harina testigo, sin embargo, la digestibilidad en ese aminoácido fue superior a la observada en la cistina, arginina, histidina y valina, siendo esto consistente con lo encontrado en otro experimento<sup>(23)</sup>; sin embargo no fue lo esperado, ya que se supone que la lisina es el aminoácido más sensible al daño térmico<sup>(24)</sup> por poseer un grupo épsilon amino libre<sup>(25)</sup> en su molécula. Se ha reportado<sup>(22,26)</sup> que la cistina también es muy susceptible al daño térmico; esto se observó en el presente trabajo, ya que la digestibilidad en la cistina fue la más afectada por el calentamiento de la HP. La menor digestibilidad observada en otros aminoácidos, es congruente con la encontrada por otros investigadores<sup>(27,20)</sup>.

### Experimento 2

Los resultados del análisis de correlación de la DP y las dos técnicas *in vitro*, mostraron que la técnica de PF se correlacionó con la técnica de DP medida *in vivo*, esto coincide con lo recomendado<sup>(28)</sup> para valorar ingredientes de origen animal. La DP determinada con la técnica de PN, no se correlacionó con la técnica DP *in vivo*, se observó que el porcentaje de digestibilidad proteica de la harina calentada por 90 min, se presentó un valor menor al obtenido *in vivo*, por lo que la técnica deberá ser estudiada con mayor detalle para medir la calidad proteica de ingredientes de origen animal expuestos a un mayor tiempo de calentamiento.

### Experimento 3

Al analizar los resultados de la prueba de crecimiento, se observó una respuesta más uniforme en el rendimiento productivo de los pollos de engorda alimentados con la dietas formuladas con base en aminoácidos digestibles, mostrando una eficiencia alimenticia superior a la de la formulación con aminoácidos totales; los resultados en esa variable se asemejan con lo encontrado en otro experimento<sup>(29)</sup> con pollos alimentados con dietas fabricadas con ese mismo criterio de formulación; por otra parte, en otro reporte<sup>(30)</sup> no se detectó efecto de la base de formulación sobre la eficiencia alimenticia en pollos de engorda<sup>(31)</sup>. El daño térmico en ingredientes proteicos ha inducido una respuesta negativa en el crecimiento en aves

compensate quality in feed ingredients and its positive impact in zootechnic yield will be higher than when diets are formulated on a TAA basis when lower quality feedstuffs are used.

## ACKNOWLEDGMENTS

The authors wish to express their gratitude to Conservera San Carlos S.A. de C.V. for providing fish meal and to Degussa Mexico S.A. de C.V. for their support in carrying out amino acid analysis in feedstuffs and in animal excreta and endogenous materials.

*End of english version*

---

alimentadas con dietas con un perfil de aminoácidos totales<sup>(31,32)</sup>. El crecimiento favorable observado en las aves alimentadas con dietas formuladas a un perfil de AAD, concuerda con lo reportado al usar ingredientes con menor calidad proteica<sup>(7,8)</sup>. La formulación a un perfil de aminoácidos digestibles se ha evaluado en la producción comercial de pollo de engorda<sup>(33)</sup>; siendo superior a la formulación con aminoácidos totales<sup>(8)</sup>; la formulación con aminoácidos digestibles se sigue estudiando<sup>(33)</sup> como una herramienta nutricional para optimizar el uso de la proteína dietaria, ya que existe la permanente preocupación de optimizar el equilibrio entre los aminoácidos de la dieta<sup>(34,35)</sup>.

## CONCLUSIONES E IMPLICACIONES

En conclusión, la formulación con AAD induce una respuesta productiva más uniforme en el pollo de engorda. La técnica de pepsina por filtración fue capaz de predecir la digestibilidad de la proteína *in vivo* de manera confiable; por otro lado, la formulación a un perfil de aminoácidos digestibles es una herramienta útil para compensar el nivel de calidad de los ingredientes alimenticios; su impacto positivo en el rendimiento zootécnico de los animales será mayor con respecto a la formulación a aminoácidos totales, en los casos en donde se empleen materias primas de menor calidad.

## AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen a la Planta Conservera San Carlos SA de CV en San Carlos, BCS por la donación de la harina de pescado. A la compañía Degussa México SA de CV, por el apoyo en los análisis de aminoácidos en los ingredientes, excretas y material endógeno de los animales.

## LITERATURA CITADA

- Parsons CM. Amino acid digestibilities for poultry: feedstuff evaluation and requirements. Chesterfield, MO, USA. FERMEX Technical review-1. Nutri-Quest, Inc. 1991:1-15.
- Shirley RB, Parsons CM. Effect of ash content on protein quality of meat and bone meal. *Poultry Sci* 2001;80:626-632.
- Shirley RB, Parsons CM. Effect of pressure processing on amino acid digestibility of meat and bone meal for poultry. *Poultry Sci* 2000;80:626-632.
- Webster MJ, Goodband RD, Tokach MD, Nelseen JL, Dritz SS, Woodworth JC, *et al.* Evaluating processing temperature and feeding value of extruded-expelled soybean meal on nursery and finishing pig growth performance. *J Anim Sci* 2003;81:2032-2040.
- Fernández SR. Aminoácidos digestibles en la formulación de dietas para el pollo de engorda. Memoria del XII Ciclo de Conferencias Internacionales sobre Avicultura. AMENA. Guadalajara, Jal. 1996:41-52.
- Sibbald IR. Estimation of available amino acids in feedingstuffs for poultry and pigs: a review with emphasis on balance experiments. *Can J Anim Sci* 1987;67:221-300.
- Fernandez SR, Zhang Y, Parsons CM. Dietary formulation with cottonseed meal on a total amino acid versus a digestible amino acid basis. *Poultry Sci* 1995;74:1168-1179.
- Douglas MW, Parsons CM. Dietary formulation with rendered spent hen meals on a total amino acid versus a digestible amino acid basis. *Poultry Sci* 1999;78:556-560.
- NRC. National Research Council. Nutrient requirements of poultry. 9<sup>th</sup>. ed. Washington, DC, USA: National Academy Press; 1994.
- Sibbald IR. The T.M.E. system of feed evaluation. Ottawa, Canada: Animal Research Center Ottawa, Ontario. Research Branch Agriculture Canada. 1984.
- AOAC. Official methods of analysis. 15<sup>th</sup>. ed. Washington, DC, USA; Association of Analytical Chemists, 1990.
- Song GL, Li DF, Piao XS, Chi F, Chen Y, Moughan PJ. True amino acid availability in chinese high-oil corn varieties determined in two types of chickens. *Poultry Sci* 2004;83:683-688.
- SAS Institute. Procedures Guide. SAS Institute Inc., Cary, NC. 1994.
- Kabat EA, Mayer MM. Inmunquímica experimental. México, DF: La Prensa Médica Mexicana; 1968.
- Baker DH. Ideal amino acid profiles for swine and poultry and their applications in feed formulation. Chesterfield, MO, USA. FERMEX Technical Review-9. Nutri-Quest, Inc. 1997:1-21.
- Snedecor GW, Cochran WG. Métodos estadísticos. México. CECSA SA de CV; 1982.
- Mariscal LG, Ávila GE, Tejada HI, Cuarón IJA, Vásquez PC. Tablas del contenido de aminoácidos totales y coeficientes de digestibilidad verdadera para aves y cerdos. INIFAP. 1997.
- Castrillón AM, Navarro MP, García-Arias MT. Tuna protein nutritional quality changes after canning. *J Food Sci* 1996; 61:1250-1253.
- Pérez-Mateos M, Montero P. High-pressure-induced gel of sardine (*Sardian pilchardus*) washed mince as affected by pressure-time-temperature. *J Food Sci* 1997;62:1183-1188.
- Wiseman J, Jaggert S, Cole DJA, Haresign W. The digestion and utilization of amino acids of heat-treated fish meal by growing/finishing pigs. *Anim Prod* 1991;53:215-225.
- Van Soest, JP. Carbohydrates. In: Nutritional ecology of the ruminant. 2<sup>nd</sup> ed. Ithaca, NY, USA: Comstock Publishing Associates, Cornell University Press; 1994:156-176.
- Parsons CM. Formulación de dietas prácticas en aves utilizando valores de digestibilidad de aminoácidos. Segundo ciclo de conferencias sobre aminoácidos sintéticos. FERMEX. México, D.F. México. 1990:38-47.
- Hendricks WH, Emmens MMA, Trass B, Pluske JR. Heat processing changes the protein quality of canned cat foods as measured with a rat bioassay. *J Anim Sci* 1999;77:669-676.
- Baker DH. Amino acid nutrition for animals. News and review. No. 4. Chesterfield, MO, USA. Kyowa Hakko Kogyo Co, LTD. 1981:1-48.
- Weigel JC. Medición de la calidad en fuentes de proteína vegetal. Memoria del X Ciclo de Conferencias internacionales sobre avicultura. AMENA. México, DF. 1991:75-82.
- Moritz JS, Latshaw JD. Indicators of nutritional value of hydrolyzed feather meal. *Poultry Sci* 2001;80:79-86.
- Tagami U, Akashi S, Mizukoshi T, Suzuki E, Hirayama K. Structural studies of the Maillard reaction products of a protein using ion trap mass spectrometry. *J Mass Spectrom* 2000;35(2):131-138.
- Parsons CM. Digestibility of amino acids in feedstuffs for poultry. In: Proceedings Maryland nutrition conference for feed manufacturers. Baltimore, MD, USA. 1990:22-29.
- Wijten PJA, Lemme A, Langhout DJ. Effects of different dietary ideal protein levels on male and female broiler performance during different phases of life: single phase effects, carryover effects, and interactions between phases. *Poultry Sci* 2004;2005-2015.
- Martínez AC, García CM, Mendoza-Martínez G, Herrera HJG. Digestibilidad y valor nutritivo de aminoácidos del sorgo y de soya en diversas formas en dietas para pollos de engorda. *Arch Latinoam Prod Anim* 1996;4(1):7-17.
- Wang X, Parsons CM. Effect of processing systems on protein quality of feather meals and hog hair meals. *Poultry Sci* 1997;76:491-496.
- Fernandez SR, Parsons CM. Bioavailability of digestible lysine in heat-damage soybean meal for chick growth. *Poultry Sci* 1996;75:224-231.
- González-Rubio RFJ, Camacho D, Ávila GE, Cuarón JA. Formulación al perfil de proteína ideal para pollos de engorda. Memorias del VII Congreso Nacional AMENA. Puerto Vallarta, Jalisco, México. 1997.
- Corzo AET, Moran Jr, Hoehler D. Arginine need of heavy broiler males: Applying the ideal protein concept. *Poultry Sci* 2003;82:402-407.
- Corzo A, Kidd MT, Kerr BJ. Threonine need of growing female broilers. *Int J Poultry Sci* 2003;2(6):367-371.