

Digestibilidad verdadera de harina de plumas fermentadas por *Kocuria rosea* en gallos adultos

Ramón Álvarez^{1*}, Annalisse Bertsch² y Nereida Coello²

¹Instituto de Producción Animal, Facultad de Agronomía, Universidad Central de Venezuela. Maracay, Aragua. Venezuela.

*Correo electrónico: alvarezr@agr.ucv.ve

²Instituto de Química y Tecnología, Facultad de Agronomía. Universidad Central de Venezuela. Maracay, Aragua. Venezuela.

RESUMEN

Se compararon las digestibilidades verdaderas de la materia seca, proteína cruda, cenizas y extracto etéreo de las harinas de plumas fermentadas por la bacteria *Kocuria rosea* (HPF) y la comercial (HPC) en gallos adultos, mediante una prueba de balance. Se utilizó un diseño completamente aleatorizado con 10 aves por tratamiento y 10 adicionales para las evaluaciones del endógeno. Los resultados indican que la materia seca de la HPF fue significativamente superior y más digestible ($P < 0,01$) respecto a la HPC. El producto fermentado principalmente contiene proteína cruda (67%) cuya digestibilidad es superior al 85% y equivalente a la de la harina comercial. Aunque contiene 45% menos de grasa, ésta se digiere más ($P < 0,01$) que la presente en la HPC. Caso contrario ocurre con los minerales, pero aunque la digestibilidad es menor ($P < 0,01$) en la HPF, los niveles de estos casi cuadruplican a los contenidos en la HPC. Los resultados obtenidos confirman que la harina de plumas fermentadas por *Kocuria rosea*, además de ser principalmente una fuente alternativa de proteína para las aves, puede también ser nutricionalmente mejor aprovechada por estos animales que la comercial.

Palabras clave: *Kocuria rosea*, plumas, fermentación, gallos adultos.

True digestibility of feather flour fermented by *Kocuria rosea* in adult roosters

ABSTRACT

Dry matter (DM), crude protein, ash, and ethereous extract true digestibility of feathers flour fermented by *Kocuria rosea* (FFM) and commercial (CFM) were compared in adult roosters by means of a balance test. It was used a completely randomized design, with 10 birds by treatment and 10 additional for the evaluations of endogenous. As for the results, DM levels of the FFM are significantly higher and more digestible with regard to the CFM. The product fermented principally contains protein (67%) whose digestibility is superior to 85% and equivalently to that of the commercial flour. Though it contains 45% less fat, it was digested more ($P < 0.01$) than the present in the CFM. Opposite case happens with the minerals, but though the digestibility is lower ($P < 0.01$) in the FFM, the levels of these almost quadruple to the contents in the FFC. Results confirm that the fermented feathers flour by *Kocuria*, beside being principally an alternative source of protein for the birds, can be also nutritionally better taken advantage by these animals that the commercial one.

Keywords: *Kocuria rosea*, feathers, fermentation, adult roosters.

INTRODUCCIÓN

Las plumas son un subproducto de la industria avícola con alto potencial para ser utilizado como materia prima para elaboración de alimentos balanceados debido a que están constituidas en un 90% por proteína (Moran *et al.*, 1966). Sin embargo, por ser queratina la proteína que las constituye, en su estado nativo presentan una digestibilidad muy baja y su utilización se ve limitada. La incorporación de la harina de plumas comercial (HPC) al sistema avícola como recurso alimenticio se realiza por los tratamientos físicos con calor y presenta deficiencias en cuanto a aminoácidos esenciales como la lisina, metionina e histidina (Grazziotin *et al.*, 2006).

Una alternativa para la utilización de este tipo de residuos consiste en la aplicación de procedimientos biotecnológicos que permiten la obtención de harina de plumas fermentadas por la bacteria *Kocuria rosea*. Este microorganismo ha sido reportado por su capacidad de excretar enzimas queratinolíticas utilizando las plumas como fuente de carbono y energía (Coello *et al.*, 2000). Estudios realizados para evaluar la calidad nutricional de esta harina de plumas fermentadas (HPF) como alimento para las aves han revelado el enriquecimiento y alta digestibilidad verdadera (mayor a 77%) de aminoácidos esenciales como lisina, metionina e histidina así como un aporte de pigmentos carotenoides (astaxantina y cantaxantina) por la bacteria respecto a la harina comercial (Bertsch *et al.*, 2003; Bertsch y Coello, 2005).

En este sentido, el presente trabajo tiene por objetivo comparar estos dos tipos de harinas (HPC y HPF), haciendo énfasis en las digestibilidades verdaderas de la materia seca, proteína cruda, cenizas, extracto etéreo y densidad de las harinas evaluadas.

MATERIALES Y MÉTODOS

El ensayo consistió en una prueba de balance que se realizó en la Unidad Avícola Experimental del INIA, ubicada en la carretera intercomunal, vía Turmero, Aragua, Venezuela, ubicada a 450 msnm, con precipitaciones y temperaturas medias anuales que varían entre 800-900 mm y 25,5-26,5°C, respectivamente.

Esta prueba se llevó a cabo siguiendo la metodología descrita por Sibbald (1976) con las modificaciones realizadas por Almeida y Baptista (1984), utilizando

40 gallos de la raza Rhode Island Red adaptados a los eventos de manejo que implica la prueba y colocados previo acostumbramiento en jaulas metálicas individuales con dimensiones de 43 x 47 x 26 cm de alto, profundidad y ancho, respectivamente. Estas jaulas estaban dotadas de un bebedero de copita y de una bandeja recolectora de heces, cuyas dimensiones eran ligeramente superiores a las de la jaula (35 x 55 cm) para asegurar una recolección efectiva de las heces.

Con el propósito de balancear los tratamientos por peso vivo de los gallos, estos fueron pesados y ubicados en 4 categorías de peso previamente establecidas. Posteriormente, utilizando un diseño experimental completamente aleatorizado se asignaron al azar y en iguales cantidades (10 gallos) a 4 grupos (3 tratamientos experimentales más el utilizado para las mediciones del endógeno), donde cada gallo representó una unidad experimental.

A pesar de que los tratamientos a evaluar fueron las harinas de pluma comercial y fermentada, debido a la naturaleza de éstas, el ensayo fue diseñado para obtener los valores de los índices digestivos de manera indirecta. Para tal fin, se empleó un grupo adicional de gallos que fueron alimentados con una dieta constituida por maíz y una mezcla de vitaminas y minerales. Por lo tanto, las dietas o tratamientos quedaron conformados como se muestra en el Cuadro 1.

La harina de pluma fermentada fue un producto obtenido mediante el uso de fermentaciones sumergidas utilizando la cepa no patógena *Kocuria rosea* (LPB-3), perteneciente al cepario del Laboratorio de Procesos Biotecnológicos del Instituto de Biología Experimental de la Universidad Central de Venezuela. El proceso de fermentación se realizó empleando un medio salino basal suplementado con plumas en 30 g/L por 48 h. El precultivo (5%) se realizó a 40°C y a 90 rpm durante 48 h en Erlenmeyers. Por su parte, el cultivo se llevó a cabo en un fermentador de 5 L de capacidad (volumen de trabajo, 3 L), controlado a 40°C, 156 rpm y un volumen de aire inyectado de 1,8 vvm. Una vez finalizado el caldo de cultivo fue filtrado para eliminar restos de plumas no degradados y el líquido remanente fue deshidratado en un secador de tambor (Bertsch *et al.*, 2003). La harina de plumas comercial fue donada por una empresa procesadora de subproductos avícolas.

Cuadro 1. Descripción de las dietas usadas en la prueba de balance.

Dieta	Componentes de las dietas			
	Maíz	HPF [†]	HPC	Vit-Min
	----- % -----			
1	99	0	0	1
2	49	50	0	1
3	49	0	50	1

[†]HPC: harina de pluma comercial, HPF: harina de pluma fermentada por *Kocuria rosea*. Vit-Min: vitaminas y minerales

Antes de iniciar el experimento, los gallos fueron sometidos a un ayuno de 48 h para garantizar el vaciado total del tracto digestivo. Posteriormente, mediante la técnica de alimentación forzada, cada gallo recibió 40 g de la dieta correspondientes a su tratamiento, mediante la ayuda de un embudo de acero inoxidable que se introdujo en la boca a través del esófago hasta alcanzar la entrada del buche. El grupo de gallos del endógeno permaneció sin alimentación para obtener los valores correspondientes a este grupo. Luego se colocó una bolsa de plástico a cada ave para la recolección de las heces, previamente pesada y adaptadas para ser fijadas a la cloaca de los gallos con ayuda de un arnés. Estas bolsas se mantuvieron en las aves durante 72 h. Al finalizar este periodo de recolección, las excretas fueron pesadas y secadas en estufa con circulación de aire a 60°C por 4 d. Seguidamente fueron molidas y conservadas para los análisis químicos respectivos.

Ambas harinas fueron analizadas en su contenido materia seca (MS), cenizas (Cen), extracto etéreo (EE) y proteína cruda (PC), de acuerdo a la metodología señalada por AOAC (1990), los cuales fueron utilizados para determinaciones que se describan abajo. La densidad es un indicativo que permite, de manera sencilla, evaluar el efecto del procesamiento sobre la harina y fue determinada pesando una cantidad de muestra de volumen conocido (Moritz y Latshaw, 2001).

Los contenidos de humedad y nitrógeno de las heces se determinaron empleando las metodologías indicadas anteriormente. En el caso de la digestibilidad de la proteína, las excretas fueron tratadas previamente para eliminar el ácido úrico (Terpstra y Hart, 1973). Una vez determinada la digestibilidad de las dietas empleadas en el ensayo, se procedió a calcular la

digestibilidad de cada una de las harinas mediante la siguiente expresión (base seca):

$$\text{Digestibilidad} = \frac{(\text{fracción digerida del trat., g}) - (\text{fracción digerida en maíz, g} + \text{vit-min}) \times 100}{\text{g de harina de plumas}}$$

$$\text{Trat.} = (\text{dietas de HPF ó HPC}) + \text{maíz} + \text{vit-min (Cuadro 1)}$$

Una vez obtenidos los valores de los índices digestivos de las mezclas, se determinaron por diferencia los valores correspondientes a las muestras puras de harinas de plumas fermentada y comercial.

Los datos obtenidos fueron sometidos a un análisis de varianza usando el procedimiento estadístico GLM (SAS, 1991). El análisis estadístico de los valores obtenidos para las fracciones analizadas se efectuó mediante la comparación de las medias aplicando el test de Student para un nivel de significancia de 5%.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La composición química de la HPF difirió significativamente ($P < 0,05$) respecto a la comercial en las fracciones químicas evaluadas (Cuadro 2). La HPC usada en el presente estudio presentó valores superiores de humedad y grasa, posiblemente debido a la contaminación de la materia prima con otros desechos de la industria avícola tales como patas, cabezas, vísceras que afectan el contenido de proteína y su composición aminoacídica (Hollmeyer, 1994). La comparación de la densidad de las harinas reveló que la HPC (347 kg/m^3) presentó una densidad 10% superior a la de la HPF (312 kg/m^3), lo que sugiere que el procesamiento biotecnológico es menos severo debido a la ausencia de aplicación de altas temperaturas y presiones en el proceso, lo que pudiera implicar menos costos energéticos que el tradicional (Moritz y Latshaw, 2001).

Las digestibilidades verdaderas de las fracciones evaluadas, con excepción de la proteína, difirieron significativamente entre tratamientos ($P < 0,01$; Cuadro 3). El producto fermentado contiene principalmente proteína cruda (67%) cuya digestibilidad se aproxima al 85% y es equivalente en términos estadísticos a la obtenida con la harina comercial. En cuanto al extracto etéreo, aunque la HPF contiene 45% menos grasa, por las razones expuestas anteriormente, su digestibilidad fue significativamente superior ($P < 0,01$) a la presente en la harina comercial. Lo contrario ocurre para el caso de los minerales, donde la digestibilidad fue significativamente menor ($P < 0,01$) en la HPF. No obstante, es importante señalar que los niveles de estos en la harina fermentada casi cuadruplican a los de la HPC. Los niveles superiores de los minerales en la HPF posiblemente están relacionados con el uso de sales minerales para la formulación del medio de cultivo.

Adicionalmente, si se considera que la HPF provenía de un caldo de fermentación que contenía el sustrato degradado y las células microbianas, el enriquecimiento proteico observado en esta harina provino del aporte de la biomasa microbiana que pasa a complementar el contenido químico del material

resultante (Bertsch y Coello, 2005; Bertsch *et al.*, 2003), lo que estaría contribuyendo a incrementar el valor nutricional de la harina fermentada respecto a la comercial.

CONCLUSIÓN

El producto obtenido mediante el proceso biotecnológico presentó una digestibilidad proteica equivalente a la harina comercial y mostró un mejoramiento de la digestibilidad de la MS y EE. En términos generales, esta harina posiblemente sea nutricionalmente mejor aprovechada por las aves que la comercial. La harina de plumas fermentadas por *Kocuria rosea* puede ser considerada como un ingrediente no convencional para la alimentación de las aves.

AGRADECIMIENTO

Al Fondo Nacional de Ciencia y Tecnología, Proyecto S1-2001-000728 y al Consejo de Desarrollo Científico y Humanístico (CDCH) de la UCV, Proyecto PI-01-37-5268-2007 por los fondos aportados. Al INIA por facilitar las instalaciones donde se realizó la experiencia, además de la asesoría brindada durante el desarrollo de la experiencia con los gallos.

Cuadro 2. Composición de las harinas de pluma fermentadas por *Kocuria rosea* (HPF) y comercial (HPC).

Fracción química, %	Tratamiento		tc†	tt
	HPC	HPF		
Materia seca	86,2 ± 0,05	93,8 ± 0,07	177	2,45
Proteína cruda	70,0 ± 1,13	67,0 ± 0,26	5,2	
Extracto etéreo	8,4 ± 0,21	5,0 ± 0,19	27	
Cenizas	4,2 ± 0,06	16,0 ± 0,12	171	

† tc = valor de t de Student calculado, tt = valor de t de Student tabulado

Cuadro 3. Digestibilidad verdadera de las distintas fracciones evaluadas en las harinas de plumas fermentadas (HPF) y comercial (HPC).

Digestibilidad, %	Tratamientos		Pr>F
	HPC	HPF	
Materia seca	66,3 ± 0,08	85,0 ± 0,07	<0,001
Proteína cruda	84,4 ± 0,07	87,8 ± 0,10	0,443
Cenizas	71,0 ± 0,20	48,9 ± 0,06	<0,005
Extracto etéreo	72,0 ± 0,07	92,9 ± 0,04	<0,001

LITERATURA CITADA

- Almeida J. y E. Baptista E. 1984. A new approach to the quantitative collection of excreta from birds in a true metabolizable energy bioassay. *Poultry Sci.*, 63: 2501-2503.
- AOAC. 1990. Official Methods of Analysis. Association of Official Analytical Chemists. 15th ed. Washington, EUA..
- Bertsch A., R. Alvarez y N. Coello. 2003. Evaluación de la calidad nutricional de la harina de plumas fermentadas por *Kocuria rosea* como fuente alternativa de proteínas en la alimentación de aves. *Rev. Cien. Fac. Cien. Vet. LUZ*, 13(2): 139-145.
- Bertsch A. y N. Coello. 2005. A biotechnological process for treatment and recycling poultry feathers as a feed ingredient. *Biores. Tech.*, 96(15): 1703-1708.
- Coello N., L. Vidal y A. Bretaña. 2000. Aislamiento de una cepa de *Kocuria rosea* degradadora de plumas de aves de corral. *Rev. Cien. Fac. Cien. Vet. LUZ*, 10(2): 107-113.
- Grazziotin A, F.A. Pimentel, E.V. De Jong y A. Brandelli. 2006. Nutritional improvement of feather protein by treatment with microbial keratinase. *Anim. Feed Sci. Tech.*, 126: 135-144.
- Hollmeyer R. 1994. Subproductos avícolas. *Industria Avícola*, Oct.: 14-18.
- Moran E., S.J. Summer y S. Slinger. 1966. Keratin a source of protein for the growing chick. I. Amino acid imbalance as the cause for inferior performance of feather meal. *Poultry Sci.*, 45: 1257-1266.
- Moritz J. y J. Latshaw. 2001. Indicators of nutritional value of hydrolyzed feather meal. *Poultry Sci.*, 80: 79-86.
- SAS. 1991. SAS for linear models. a guide to the ANOVA and GLM procedures. SAS Institute. Cary, EUA.
- Sibbald I. 1976. A bioassay for true metabolizable energy in feedingstuffs. *Poultry Sci.*, 55: 303-308.
- Terpstra K. y N. Hart. 1973. The estimation of urinary nitrogen and fecal nitrogen in poultry excreta. *Z. Tierphysiol. Tiernähr. U. Futtermittelkde*, 32: 306-320.