
**INFLUENCIA DE PROTEASAS Y CARBOHIDRASAS EN LA ALIMENTACIÓN DE
POLLOS DE ENGORDE. APLICACIÓN DE DISEÑO DE EXPERIMENTOS**

Presentado por
Jenny Carolina Martín Rincón

Fundación Universitaria Los Libertadores

Facultad de Ingeniería y Ciencias Básicas

Especialización en Estadística Aplicada

Bogotá D.C, Colombia

2018

**INFLUENCIA DE PROTEASAS Y CARBOHIDRASAS EN LA ALIMENTACIÓN DE
POLLOS DE ENGORDE. APLICACIÓN DE DISEÑO DE EXPERIMENTOS**

Presentado por

Jenny Carolina Martín Rincón

En cumplimiento parcial de los requerimientos para optar al título

de

Especialista en Estadística Aplicada

Dirigida por

Mg. Lida Rubiela Fonseca Gómez

Profesora

Fundación Universitaria Los Libertadores

Facultad de Ingeniería y Ciencias Básicas

Especialización en Estadística Aplicada

Bogotá D.C, Colombia

2018

Nota de Aceptación

Firma del presidente del jurado

Firma del jurado

Firma del jurado

Bogotá, D.C, junio de 2018

Las directivas de la Fundación Universitaria
Los Libertadores los jurados calificadores y el
cuerpo docente no son responsables por los
criterios e ideas expuestas en el presente
documento. Estos corresponden únicamente a
los autores y a los resultados de su trabajo.

A Dios, la Virgen María y a los Ángeles del Cielo por todo

A Daniel y a Jhon por su amor y compañía

A mi familia

Agradecimientos

A la Fundación Universitaria Los Libertadores, sus profesores y colaboradores.

A la profesora Lida Fonseca por la asesoría en la ejecución de este trabajo, sus comentarios y aportes.

A la Planta Productora de Alimentos Balanceados para Animales por el suministro de los datos para el desarrollo del trabajo

A mis compañeros de especialización

A todos muchas gracias

Tabla de contenido

1.	Introducción	3
2.	Planteamiento del problema.....	5
2.1	Objetivos	6
2.1.1	Objetivo general.....	6
2.1.2	Objetivos específicos	6
2.2	Justificación	7
3.	Marco conceptual.....	8
3.1	Nutrición animal	8
3.2	Enzimas y su uso en alimentación animal	10
3.3	Diseño de experimentos.....	14
3.3.1	Diseño completamente aleatorizado (DCA)	16
4.	Marco metodológico	19
4.1	Instalaciones.....	19
4.2	Unidades experimentales	19
4.3	Diseño experimental y tratamientos.....	20
4.4	Variables respuesta	21
4.5	Análisis estadístico.....	21
5.	Resultados y análisis de resultados	24
5.1	Efecto de las proteasas	24
5.1.1	BoxPlot	24
5.1.2	Verificación de normalidad.....	26
5.1.3	Análisis de varianza	27
5.1.4	Prueba de Kruskal-Wallis	28
5.1.5	Validación del supuesto de homogeneidad de varianzas	29
5.1.6	Validación del supuesto de independencia.....	30
5.2	Análisis de carbohidrasas.....	32
5.2.1	Boxplot.....	32
5.2.2	Prueba de normalidad	34
5.2.3	Análisis de varianza	35
5.2.4	Validación del supuesto de homogeneidad de varianzas	36

5.2.5 Validación del supuesto de independencia	37
5.2.6 Comparaciones múltiples.....	39
6. Conclusiones y recomendaciones	41
6.1 Conclusiones	41
6.2 Recomendaciones	42
7. Referencias.....	43

Listado de figuras

Figura 1. Boxplot variable peso – Efecto de los tratamientos con la adición de proteasas	25
Figura 2. Boxplot variable consumo de alimento (g) - Efecto de los tratamientos con la adición de proteasas.....	25
Figura 3. Boxplot variable conversión alimenticia - Efecto de los tratamientos con la adición de proteasas.....	26
Figura 4. Prueba de independencia para la variable peso, días 1 y 7 – Efecto de los tratamientos con la adición de proteasas	30
Figura 5. Prueba de independencia para la variable peso, días 21 y 35 – Efecto de los tratamientos con la adición de proteasas.....	31
Figura 6. Prueba de independencia para la variable consumo de alimento, días 7, 21 y 35 – Efecto de las proteasas	31
Figura 7. Prueba de independencia para la variable conversión alimenticia, días 7, 21 y 35 – efecto de los tratamientos con la adición de proteasas	32
Figura 8. Boxplot variable peso - Efecto de los tratamientos con la adición de carbohidrasas...	33
Figura 9. Boxplot variable Consumo de alimento - Efecto de los tratamientos con la adición de carbohidrasas.....	33
Figura 10. Boxplot variable conversión alimenticia - Efecto de los tratamientos con la adición de carbohidrasas.....	34
Figura 11. Prueba de independencia para la variable peso, días 1 y 7 – Efecto de los tratamientos con la adición de carbohidrasas	37
Figura 12. Prueba de independencia para la variable peso, días 21 y 35 – Efecto de los tratamientos con la adición de carbohidrasas.....	37

Figura 13. Prueba de independencia para la variable consumo de alimento, días 7, 21 y 35 – Efecto de los tratamientos con la adición de carbohidrasas.....	38
Figura 14. Prueba de independencia para la variable conversión alimenticia, días 7, 21 y 35 – Efecto de los tratamientos con la adición de carbohidrasas.....	38

Listado de tablas

Tabla 1. Enzimas empleadas en alimentación animal.....	12
Tabla 2. Análisis de varianza para el DCA.....	18
Tabla 3. Resultados del p-valor para la prueba de normalidad – Efecto de los tratamientos con la adición de proteasas	27
Tabla 4. Análisis de varianza - Efecto de los tratamientos con la adición de proteasas	27
Tabla 5. Resultados de la prueba de Kruskal-Wallis para los datos del día 35 bajo el efecto de las proteasas.....	28
Tabla 6. Resultados prueba de Levene – Efecto de los tratamientos con la adición de proteasas	29
Tabla 7. Resultados del p-valor para la prueba de normalidad – Efecto de los tratamientos con la adición de carbohidrasas	35
Tabla 8. Análisis de varianza - Efecto de los tratamientos con la adición de carbohidrasas	35
Tabla 9. Resultados prueba de Levene – Efecto de los tratamientos con la adición de carbohidrasas.....	36
Tabla 10. Resultados de la prueba de Dunnett para comparaciones múltiples día 21, variable peso– Efecto de los tratamientos con la adición de carbohidrasas	39
Tabla 11. Resultados de la prueba de Dunnett para comparaciones múltiples día 35, variable peso – Efecto de los tratamientos con la adición de carbohidrasas	39
Tabla 12. Resultados de la prueba de Dunnett para comparaciones múltiples día 21, conversión alimenticia – Efecto de los tratamientos con la adición de carbohidrasas	40
Tabla 13. Resultados de la prueba de Dunnett para comparaciones múltiples día 35, conversión alimenticia – Efecto de los tratamientos con la adición de carbohidrasas	40

INFLUENCIA DE PROTEASAS Y CARBOHIDRASAS EN LA ALIMENTACIÓN DE POLLOS DE ENGORDE. APLICACIÓN DE DISEÑO DE EXPERIMENTOS

Resumen

Se llevaron a cabo dos experimentos donde se evaluó el efecto de la fortificación de alimento para pollo de engorde a través de la adición de dos tipos de enzimas (cuatro proteasas en el primer experimento, y seis carbohidrasas en el segundo). Esto con el fin de determinar su impacto sobre indicadores de desempeño zootécnico, tales como: peso del ave, consumo de alimento y conversión alimenticia. Los datos fueron recolectados aplicando un diseño completamente aleatorizado en los días 1, 7, 21 y 35. Se observó que la incorporación de las proteasas no mostró efecto en el día 7, pero en el día 21 los tratamientos evidenciaron diferencias significativas en las variables: peso de las aves y conversión alimenticia ($p \leq 0.05$). No obstante, estas diferencias no mantuvieron su tendencia al finalizar el experimento (día 35). Por su parte, los tratamientos con la adición de carbohidrasas mostraron diferencias estadísticamente significativas a partir del día 21 hasta el día 35, donde los resultados indican que el peso de las aves y la conversión alimenticia mejoraron con la adición de las carbohidrasas del tratamiento 8, en comparación con los resultados obtenidos en el tratamiento control. En conclusión, las aves respondieron positivamente a la suplementación con las carbohidrasas del tratamiento 8. Sin embargo, no fue posible seleccionar ninguna de las proteasas ya que no tuvieron efecto alguno sobre los indicadores de desempeño zootécnico evaluados.

Palabras clave: Diseño completamente aleatorizado, ANOVA, pruebas no paramétricas, enzimas.

Abstract

Two experiments were carried out where the fortification effect of food for broiler chickens was evaluated by means of adding two different types of enzymes (four proteases in the first experiment, and six carbohydrases in the second one). This was done with the purpose of determining their impact on growth performance indicators, such as: body weight, feed intake and feed conversion ratio. The data were collected by using a completely randomized design on days 1, 7, 21 and 35. It was observed that the addition of proteases did not show any effect on day 7, but the treatments evidenced significant differences in body weight and feed conversion ratio ($P \leq 0.05$) on day 21. Nevertheless, these differences did not keep their tendency by the end of the experiment (day 35). On the other hand, the treatments where carbohydrases were added showed significant statistical differences from day 21 until day 35, where the results indicated that body weight and feed conversion ratio were improved by adding the carbohydrases from treatment 8, compared to the results obtained in the control treatment. As a conclusion, birds had a positive response to the addition of carbohydrases from treatment 8. However, it was not possible to choose any protease since they had no effect on the evaluated growth performance indicators.

Keywords: Completely randomized design, ANOVA, non-parametric tests, enzymes

1. Introducción

La industria avícola no sólo es importante desde el punto de vista económico, sino que también lo es desde el punto de vista social, ya que la proteína animal que aporta la carne y el huevo tiene precios accesibles al consumidor. Uno de los factores para lograrlo es la nutrición y la alimentación de las aves, por representar un alto costo en la producción. En ese orden de ideas, se hace indispensable conocer las funciones que desempeñan los diferentes ingredientes que componen la dieta y de esta forma cubrir las necesidades nutricionales de las aves (Gómez, Cortés, López & Ávila, 2011).

Una dieta balanceada y altamente digestible debe contener todos los nutrientes en la cantidad, calidad y proporción adecuadas y deben estar disponibles, además de los aditivos necesarios los cuales no aportan ningún nutriente, pero su uso contribuye al mejoramiento de las características físicas de la dieta, la aceptabilidad del alimento o la salud de las aves. Desde hace varios años, se reconoce que la suplementación con enzimas, como aditivos alimentarios, en las dietas para aves mejora el aprovechamiento y el rendimiento nutricional de los ingredientes empleados en la formulación (Leeson, Summers & Díaz, 2000).

Teniendo en cuenta estos antecedentes, el objetivo del presente trabajo consiste en evaluar la eficiencia de varias enzimas en la formulación de alimento para pollo de engorde con la finalidad de seleccionar aquellas con las cuales se obtenga mejores rendimientos productivos en las aves. Para ello se cuenta con dos conjuntos de datos suministrados por una planta productora de alimentos concentrados para aves, quienes evalúan los efectos de los ingredientes mediante pruebas en granjas experimentales. De estos experimentos se obtuvieron resultados por la adición de proteasas y carbohidrasas; cada una de estas enzimas suministradas por diferentes proveedores. Los datos obtenidos se analizaron mediante métodos estadísticos y de los resultados

obtenidos se definió cuál o cuáles enzimas son óptimas para su adición al alimento desde el punto de vista productivo y económico.

El trabajo está dividido en cuatro partes, en primer lugar, se expone un marco conceptual, donde se da a conocer el tema con relación a la alimentación animal, más específicamente alimentación aviar y algunos estudios realizados con la adición de enzimas y sus respectivos resultados. En segundo lugar, se describe la metodología con la cual se obtuvieron los datos y los métodos estadísticos empleados para su análisis. En tercer lugar, se presentan los resultados obtenidos y su respectivo análisis. Por último, se dan las conclusiones, recomendaciones y referencias bibliográficas.

2. Planteamiento del problema

En la industria avícola, la alimentación de las aves representa entre un 65 y 70 % del costo total de la producción; por lo cual, cualquier intento que se realice para disminuir este gasto sin afectar la eficiencia productiva y poder mantener precios accesibles al consumidor será de gran utilidad a la avicultura hoy en día (Cuca, Ávila & Pro, 2009).

Actualmente, existe la necesidad permanente de investigar nuevos aditivos y fuentes de alimentación diferentes para reevaluar los ingredientes comúnmente usados; no sólo para reducir el costo del alimento, sino también para aumentar el valor nutritivo del mismo. De esta forma, es indispensable que las compañías que elaboran alimentos para aves estén al tanto del potencial que representan estos ingredientes (Leeson, Summers & Díaz, 2000).

Dentro del grupo de aditivos alimentarios se encuentran las enzimas, las cuales, dependiendo del sustrato sobre el cual actúen, se clasifican de manera general como carbohidrasas, proteasas y lipasas de acuerdo a su uso específico en alimentación animal. Aproximadamente, entre el 60 y el 70 % del contenido de una dieta está constituida por granos y del 20 al 30 % por oleaginosas. Estos ingredientes son procesados en el tracto digestivo por enzimas endógenas (Elizarraraz, 1999). Sin embargo, fracciones importantes de estos ingredientes presentan una digestibilidad incompleta por las aves, lo cual ha promovido el interés en mejorarla por medio de la suplementación con enzimas exógenas (Elizarraraz, 1999).

La suplementación con enzimas en las dietas para aves dio inicio cuando investigadores en la Universidad del Estado de Washington observaron una mayor digestibilidad de la cebada luego de adicionar enzimas. Su aplicación inicial de forma comercial en la industria avícola se inició a fines de los años 80, y su uso exitoso fue después de 1992 cuando se empleaban enzimas individuales en el proceso alimenticio. Actualmente, su uso se realiza de forma combinada en

cocteles enzimáticos y se espera que con la implementación de biotecnología se desarrollen nuevas enzimas y versiones diferentes de enzimas ya existentes con un mejor enfoque y nivel de actividad (Leeson, Summers & Díaz, 2000).

En ese orden de ideas, en este ejercicio práctico se pretende contestar a la pregunta: ¿Cuáles enzimas de tipo carbohidrasa y proteasa pueden ser incorporadas en dietas para pollos de engorde en la producción comercial de concentrado para aves en una planta que produce alimento balanceado para animales, al evaluar su efecto sobre indicadores de desempeño zootécnico?

2.1 Objetivos

2.1.1 Objetivo general

Seleccionar la o las enzimas de tipo proteasa y carbohidrasa, de diferentes marcas comerciales, que presenten mayor efectividad en el comportamiento productivo del pollo, empleando un diseño experimental completamente aleatorizado.

2.1.2 Objetivos específicos

- Determinar si existen diferencias entre el tratamiento control y los tratamientos con la aplicación de diferentes proteasas y carbohidrasas.
- Identificar cuál de los tratamientos que incluyen las enzimas afectan positivamente los indicadores de desempeño zootécnico (peso de las aves, consumo de alimento y conversión alimenticia).

2.2 Justificación

Una planta de producción de alimento concentrado para aves tiene la necesidad de conocer si la adición de enzimas en las dietas de las aves, específicamente 6 carbohidrasas y 4 proteasas de marcas comerciales, tienen efecto sobre indicadores de desempeño zootécnico (ganancia de peso, consumo de alimento y conversión alimenticia) en comparación con una dieta control, con el propósito de incorporarlas y hacer uso continuo de las mismas en la producción comercial.

3. Marco conceptual

3.1 Nutrición animal

El valor nutritivo de los alimentos para aves está dado no sólo por su composición, sino también por el grado en el cual el ave es capaz de digerir, absorber y utilizar sus componentes (Elizarraraz, 1999). La producción de pollo de engorde tiene diferentes etapas de alimentación, basadas en los procesos fisiológicos y metabólicos del animal. Su objetivo es proporcionar al ave la cantidad necesaria de nutrientes necesarios en una determinada edad, para evitar desperdicios o sobrealimentación. El principal propósito de la formulación de dietas para pollos de engorde es conseguir el mayor peso al mercado a la edad más temprana posible. Es importante considerar que la velocidad de crecimiento del ave no está dada únicamente por el mejoramiento genético y los programas de prevención y salud, sino también por los programas de alimentación (Gómez, et al., 2011).

Para evaluar la eficiencia de las dietas de las aves se tienen en cuenta varios índices productivos como:

- La conversión alimenticia donde se relaciona el alimento consumido por el animal y la ganancia de peso logrado durante el periodo establecido. Este término está influenciado por factores alimenticios como la formulación, calidad de materias primas y procesos de manufactura; y factores no alimenticios que incluyen la genética y prácticas de manejo y alojamiento dentro de la granja donde residen los animales. Estos factores pueden ser la temperatura ambiental, densidad animal, la ventilación, comederos, agua, sanidad, entre otros (Engormix, 2014).
- Ganancia de peso: matemáticamente la ganancia de peso por días se expresa como: $(\text{peso promedio final} - \text{peso promedio inicial}) / \text{número de días}$

- Consumo de alimento: El consumo voluntario se define como la cantidad de alimento que ingiere un animal en un día cuando el alimento se suministra a voluntad. La importancia del consumo voluntario de alimentos deriva en que solamente cuando el animal ha ingerido lo suficiente para cubrir sus necesidades de mantenimiento puede disponer de nutrientes para cubrir sus necesidades de crecimiento y producción. Por ello, si el nivel de ingestión es bajo, el crecimiento y la producción será baja o nula; según va aumentando el consumo aumenta la producción. Este parámetro se expresa como cantidad absoluta: kg/día (Universidad de las Palmas de Gran Canaria, s.f.)

Los avances en nutrición avícola han incorporado el uso de vitaminas, minerales, aminoácidos, enzimas y otros aditivos, los cuáles han permitido optimizar la eficiencia de la producción. La introducción de enzimas es aún un concepto innovador en el ámbito mundial, especialmente en los lugares que utilizan dietas basadas en maíz, sorgo y soya. (De Paz, 2007). El uso de enzimas en la alimentación de las aves no solo representa una mejora en el valor nutricional de los alimentos, sino que también permite incrementar sus posibilidades en el uso de materias primas ya que reduce el efecto de antinutrientes de ciertos ingredientes incluidos en las dietas; es el caso de las carbohidrasas, las cuales tienen unos impactos positivos en el mejoramiento de la energía disponible y la disponibilidad de nutrientes en dietas a base de cebada, trigo y avena. Estos mecanismos involucran la degradación de la pared celular para liberar nutrientes encapsulados, disminuyen la producción de material viscoso en el tracto gastrointestinal, incrementan la disponibilidad de nutrientes a las enzimas digestivas y por último aumentan la velocidad del tránsito intestinal (Roofchaei, Rezaeipour, Vatandour & Zaefaraian, 2017).

Asimismo, el uso de enzimas ofrece mayor variabilidad de alimentos que se pueden emplear en la formulación del alimento y proporciona más ganancias al productor de alimentos balanceados (Acosta & Cárdenas, 2006).

3.2 Enzimas y su uso en alimentación animal

Las enzimas son macromoléculas de naturaleza proteica que actúan como catalizadores biológicos, incrementando la velocidad de reacción. Cada enzima tiene características propias y actúa sobre un sustrato en particular para dar un producto específico. La rápida velocidad de reacción se debe a la afinidad de la enzima por su sustrato, la cual se refleja en la unión de ambos y en el rendimiento de los productos. Las enzimas se clasifican en seis diferentes grupos, dependiendo del tipo de reacción catalizada. Estos grupos son: oxidoreductasas, transferasas, hidrolasas, lipasas, isomerasas y ligasas (Palmer & Bonner, 2014).

La composición de cualquier sistema biológico, como la digestión de un animal, está determinada por la especificidad, la concentración y la eficacia de las enzimas presentes. Aunque las enzimas actúan como catalizadores, son eficaces en muy pequeñas cantidades, Se ha informado que una mol de enzima puede reaccionar 1000 -10 000 veces por segundos con el sustrato (Sabatier & Fish, 1996).

Las enzimas exógenas han sido ampliamente utilizadas en los monogástricos, principalmente en aves, con los objetivos de eliminar los factores antinutricionales, aumentar la digestibilidad de los nutrientes, complementar la actividad de las enzimas endógenas y reducir el impacto contaminante de las heces de los animales en el ambiente (De Paz, 2007). Todos estos beneficios son evidentes para la industria avícola y los consumidores.

Varios autores clasifican la acción de las enzimas en varias categorías, dependiendo de su acción sobre los ingredientes empleados en la dieta (Bedford, 2000):

- Enzimas para cereales viscosos como cebada, trigo, avena, entre otros.

Estos ingredientes se caracterizan por su contenido de polisacáridos no amiláceos los cuales afectan la viscosidad intestinal, y la energía metabolizable en la dieta. Como ejemplo de este tipo de enzimas tenemos la xilanasas.

- Enzimas para cereales no viscosos como maíz y sorgo. Existe la posibilidad de mejorar la digestibilidad del almidón y disminuir la variabilidad de la energía metabolizable con el uso de enzimas con actividad amilasa significativa.

- Enzimas para ingredientes distintos a los cereales. Dentro de estos ingredientes se encuentran aquellos de naturaleza proteica de origen vegetal como la harina de soya y una gran variedad de harinas de oleaginosas (harina de canola, harina de girasol, etc.). La mayoría de estos ingredientes tienen un contenido de proteína considerable, pero además contienen factores antinutricionales como los inhibidores de tripsina. La suplementación de las dietas con enzimas exógenas del tipo proteasa mejora la disponibilidad de aminoácidos mediante la hidrólisis de las proteínas provenientes de la dieta, mejorando el crecimiento de las aves en edades tempranas de su desarrollo.

- Fitasas. Estas enzimas mejoran el uso de fósforo fítico de los vegetales. De esta forma, el uso de fitasas exógenas constituye una forma potencial de mejorar la disponibilidad de este costoso nutriente y disminuir la excreción de fósforo al medio ambiente. Adicionalmente, se conoce que el ácido fítico forma complejos con proteínas y minerales reduciendo la digestión y empleo de estos nutrientes. Es por ello que la suplementación con fitasas puede mejorar la disponibilidad de dichos nutrientes.

A continuación, se presentan algunas de las enzimas más utilizadas en la alimentación para aves:

Tabla 1. Enzimas empleadas en alimentación animal

Enzimas	Sustratos	Efectos
Carbohidrasas: Xilanasas Glucanasas Pectinasas Celulasas	(arabino)-xilanos B-glucanos Pectinas Celulosa y derivados	Reducción de la viscosidad durante la digestión Mejora la digestibilidad de la fibra y la celulosa
Proteasas	Proteínas	Mejora la degradación de las proteínas
Amilasas	Almidón	Mejora la degradación de los componentes amiláceos
Fitasas	Ácido fítico	Mejora el aprovechamiento delo fósforo vegetal
Galactosidasas	α -galactosidos	Eliminación de los α -galactosidos

(Tomado de Acosta & Cárdenas, 2006).

La influencia de enzimas exógenas en alimentación animal se conoce hace ya muchos años, pero es en las últimas dos décadas que se ha comprendido mejor su acción, y, gracias a los avances biotecnológicos, ha sido posible la producción de enzimas a un bajo costo para justificar su uso en fórmulas para alimentación animal (Bedford, 2000).

La primera aplicación comercial de enzimas en la industria avícola fue en el inicio de los 90 donde se utilizaron carbohidrasas (xilanasas y β -glucanasas) para degradar factores antinutricionales de los granos de avena y cebada (cereales viscosos) y fitasas para dar una solución a la contaminación ambiental producido por la presencia de fósforo en las excreciones de las aves (Altech, 2016). Adicionalmente, estos eventos fueron seguidos por la decisión de la Unión Europea en discontinuar el uso sub-terapéutico de los antibióticos como promotores de crecimiento (Regulation EC No. 1831/2003 of the European parliament and the council of 22

September 2003 on additives for use in animal nutrition; Castanon, 2007), lo cual promovió aún más la investigación y el uso de enzimas como una de las muchas alternativas para su reemplazo. (Celi et al., 2017).

Actualmente existen una variedad de investigaciones que se han llevado a cabo con la adición de enzimas. Mahmood, Mirzaa & Nawaza (2017) estudiaron el efecto de diferentes proteasas, a pH neutro y ácido, sobre variables como la eficiencia en el crecimiento de las aves, digestibilidad de nutrientes, y características de la cáscara del huevo, obteniendo resultados satisfactorios en las variables de respuesta evaluadas. En un estudio donde se evaluó el impacto de una preparación comercial de proteasas - RonozymeProAct - producido por DSM, con el ánimo de reducir el porcentaje de aminoácidos y proteína cruda incluida en la dieta, además de la energía metabolizable, se concluyó que las aves respondieron positivamente a la suplementación en todas las variables evaluadas (Kamel, Ragaa, El-Banna & Mohamed, 2015).

Por otra parte, se evaluó el efecto de α -amilasa y β -xilanasas individualmente y de manera conjunta, empleando dietas a base de maíz y torta de soya con variación en la energía metabolizable aparente; los resultados mostraron que la suplementación permitió incrementar en términos de rendimiento la energía estimada, encontrándose una marcada diferencia a favor de la α -amilasa sobre la β -xilanasas cuando se empleaban de manera individual y con resultados muy similares a los obtenidos por la enzima α -amilasa cuando se empleaban las dos simultáneamente (Stefanello et al., 2017). Otros estudios similares se han hecho con carbohidrasas (xilanasas y β -glucanasas) en combinación con fitasa para evaluar la respuesta en la eficiencia del crecimiento de las aves, atributos de la cáscara de huevo y flora intestinal en dietas a base de trigo, con resultados positivos (Roofchaei et al., 2017).

Teniendo en cuenta estos antecedentes, es claro que el uso de enzimas ha logrado avances en los últimos años gracias a los beneficios relacionados tanto en la salud y el bienestar animal, como en el mejoramiento de temas productivos. No obstante, la adición de enzimas a dietas comerciales requiere de cierta planeación para mejorar aspectos como:

- La identificación del sustrato de interés dentro de la dieta para la adición de la enzima o las enzimas necesarias para el aprovechamiento de los nutrientes.
- La inestabilidad de las enzimas a altas temperaturas, especialmente en aquellos lugares donde la humedad es alta y no logran resistir temperaturas en los procesos de pelletización del alimento y más aún, de extrusión/expansión; por lo cual es necesario desarrollar nuevas tecnologías para su aplicación post-pellet de forma líquida o desarrollar enzimas resistentes al calor o la protección de preparados enzimáticos actuales, de manera que soporten las condiciones de procesamiento del alimento (Bedford, 2000).

3.3 Diseño de experimentos

En la actualidad, la mayoría de las disciplinas han encontrado en el diseño de experimentos aplicaciones útiles para resolver problemas pertinentes bajo su investigación. De hecho, la experimentación puede considerarse parte del proceso científico y uno de los medios para conocer el funcionamiento de sistemas y procesos. El diseño estadístico de experimentos se refiere al proceso para planear el experimento de tal forma que se recolecten datos adecuados que puedan analizarse con métodos estadísticos que llevarán a conclusiones válidas y objetivas (Montgomery, 2004).

Para que a partir de un diseño experimental se puedan obtener datos válidos es necesario aplicar los tres principios básicos mencionados por Montgomery (2004):

- Realización de réplicas, las cuales poseen dos propiedades importantes: primero, permite al experimentador obtener una estimación del error experimental, y segundo, obtener una estimación más precisa del efecto de un factor en el experimento cuando se utiliza la media muestral.

- La aleatorización. Por aleatorización se entiende que tanto la asignación del material experimental como el orden en que se realizan los ensayos individuales del experimento se determinan al azar. La aleatorización cumple dos propósitos: por un lado, evita los sesgos causados por fuentes extrañas de variación no controlables y, por el otro, la tendencia consciente o inconsciente del experimentador o del proceso, a favorecer grupos únicos de unidades experimentales.

- Formación de bloques es una técnica que se emplea para mejorar la precisión de las comparaciones que se hacen entre los factores de interés.

Para elegir el diseño se debe tener en cuenta el número de repeticiones, las condiciones del sitio experimental y las condiciones del manejo del ensayo (Melo, López & Melo, 2007)

Dada la gran diversidad de problemas que se presentan en la práctica, existe la posibilidad de escoger entre los diseños experimentales existentes, teniendo en cuenta los siguientes aspectos:

- El objetivo del experimento.
- El número de factores a estudiar.
- El número de niveles que se prueban en cada factor.
- Los efectos que interesa investigar (relación factores-respuesta).
- El costo del experimento, tiempo y precisión deseada.

Adicionalmente, es preciso conocer cómo se clasifican los diseños de acuerdo a su objetivo y alcance, con base en los aspectos mencionados anteriormente (Gutiérrez & De la Vara, 2012):

- Diseños para comparar dos o más tratamientos.
- Diseños para estudiar el efecto de varios factores sobre la(s) respuesta(s).
- Diseños para determinar el punto óptimo de operación del proceso.
- Diseños para la optimización de una mezcla.
- Diseños para hacer el producto o proceso insensible a factores no controlables.

3.3 1 Diseño completamente aleatorizado (DCA)

En el DCA, los tratamientos se asignan a las unidades experimentales al azar. Cada unidad experimental tiene la misma posibilidad de recibir cualquier tratamiento (Kuehl, 2001). Este tipo de diseños se emplea cuando las unidades experimentales son suficientemente homogéneas entre sí, es decir, cuando la variación entre ellas es pequeña. A continuación, se presentan las ventajas y desventajas del diseño (López & González, 2013)

- **Ventajas:** El DCA es flexible en cuanto a que el número de tratamientos y de repeticiones sólo está limitado por el número de unidades experimentales disponibles. El número de repeticiones puede variar de un tratamiento a otro, pero lo ideal sería tener un número igual por tratamiento.
- **Desventajas:** Como la aleatorización no tiene restricciones, el error experimental incluye toda la variación entre las unidades experimentales, excepto la debida a los tratamientos. En muchas situaciones es posible agrupar las unidades experimentales de modo

que la variación entre unidades dentro de los grupos sea menor que la variación entre las unidades de los diferentes grupos.

3.3.1.1 Modelo estadístico

El modelo estadístico que describe los datos de este experimento es (Melo, López & Melo, 2007):

$$y_{ij} = \mu_i + \epsilon_{ij} \quad (1)$$

$$i = 1, 2, \dots, t \text{ (tratamientos)}$$

$$j = 1, 2, \dots, r_i \text{ (número de réplicas en el tratamiento } i \text{ – ésimo)}$$

Donde μ_i es la media de la población i -ésima y ϵ_{ij} es el error experimental aleatorio asociado a la observación y_{ij} .

3.3.1.2 Análisis de varianza

El análisis de varianza es la técnica central en el análisis de datos experimentales. La idea general de esta técnica es separar la variación total en las partes en las que contribuye cada fuente de variación en el experimento (Gutiérrez & De la Vara, 2012).

Si el diseño es unifactorial, se aplica ANOVA de clasificación simple o de una vía. Si es multifactorial, el ANOVA correspondiente será de dos vías (dos factores), de tres vías (tres factores), etc. Si se tiene un factor y una variable de agrupación (diseño de bloques) el ANOVA también es de dos vías. Si se tiene un factor y dos variables de agrupación (diseño de cuadro latino) el ANOVA será de tres vías, esto se generaliza al caso de n -vías de clasificación (Melo, López & Melo, 2007).

El objetivo del análisis de varianza en el DCA es probar la hipótesis de igualdad de los tratamientos con respecto a la media de la correspondiente variable de respuesta.

Para el caso del DCA, se separa la variabilidad debida a los tratamientos y la debida al error, por lo cual la suma de cuadrados totales se puede dividir en dos componentes (Gutiérrez & De la Vara, 2012):

$$SC_T = \sum_{i=1}^k n_i (\bar{Y}_{i.} - \bar{Y}_{..})^2 + \sum_{i=1}^k \sum_{j=1}^{n_i} (\bar{Y}_{ij} - \bar{Y}_{i.})^2 \quad (2)$$

Donde el primer componente es la suma de cuadrados de tratamientos (SC_{TRAT}) y el segundo es la suma de cuadrados del error (SC_E).

La suma de cuadrados divididas entre sus respectivos grados de libertad se llaman cuadrados medios. El cuadrado medio de los tratamientos y el cuadrado medio del error se denotan por:

$$CM_{TRAT} = \frac{SC_{TRAT}}{k-1} \quad (3)$$

$$CM_E = \frac{SC_E}{N-k} \quad (4)$$

Bajo el supuesto de que la hipótesis H_0 es verdadera, el estadístico es:

$$F_0 = \frac{CM_{TRAT}}{CM_E} \quad (5)$$

La tabla de análisis de varianza (ANOVA) se muestra a continuación:

Tabla 2. Análisis de varianza para el DCA

Fuente de variabilidad	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrado medio	F ₀	Valor-p
Tratamientos	$SC_{TRAT} = \sum_{i=1}^k \frac{Y_{i.}^2}{n_i} - \frac{Y_{..}^2}{N}$	k-1	$CM_{TRAT} = \frac{SC_{TRAT}}{k-1}$	$\frac{CM_{TRAT}}{CM_E}$	P (F > F ₀)
Error	$SC_E = SC_T - SC_{TRAT}$	N-k	$CM_E = \frac{SC_E}{N-k}$		
Total	$SC_T = \sum_{i=1}^k \sum_{j=1}^{n_i} Y_{ij}^2 - \frac{Y_{..}^2}{N}$	N-1			

(Tomado de: Gutiérrez & De la Vara, 2012).

Es importante tener en cuenta que en el ANOVA la variable respuesta se distribuye normal, con varianza constante, y que las mediciones son independientes entre sí.

4. Marco metodológico

4.1 Instalaciones

Los datos objeto de estudio fueron recolectados de dos experimentos desarrollados en la granja experimental avícola que pertenece a una planta que procesa alimento concentrado para animales. La granja está localizada en el municipio de Pie de Cuesta, Santander, a una altura de 1005 m.s.n.m., con una temperatura y porcentaje de humedad promedio de 23 °C y 75 % respectivamente. Con respecto a las instalaciones, la granja experimental se compone un área de encierros formada por dos secciones, A y B:

- La sección A tiene 48 encierros con dimensiones individuales por encierro de 1.5 x 2.0 m. Se emplearon 8 encierros por tratamiento, para un total de 6 tratamientos, donde cada encierro tuvo un total de 34 aves.
- La sección B tiene 64 encierros con dimensiones individuales por encierro de 1.5 x 1.5 m. Se emplearon 8 encierros por tratamiento, para un total de 8 tratamientos, donde cada encierro tuvo un total de 25 aves.

4.2 Unidades experimentales

Para el experimento 1 y 2, se utilizaron 1632 y 1600 aves respectivamente, pertenecientes a la raza Ross 308 de un día de edad y distribuidas aleatoriamente en los encierros de las secciones A y B. El ensayo se dividió en dos periodos, el de iniciación con una duración de 3 semanas y el periodo de finalización con un tiempo de 2 semanas. El agua y el alimento se suministraron a voluntad en las dos etapas.

4.3 Diseño experimental y tratamientos

Se aplicó un diseño completamente aleatorizado (DCA) en los dos experimentos.

En el primer experimento se aplicaron los siguientes tratamientos:

- Tratamiento 1: Control: 21.5 % de proteína en la dieta de iniciación (1-21 días) y 19,5 % en la de finalización (22 a 35 días)
- Tratamiento 2: Control negativo (Reducción de proteína en 8 % en las dietas): 13.5 % de proteína en la dieta de iniciación y 11,5 % en la de finalización.
- Tratamiento 3: Control negativo + enzima 1P
- Tratamiento 4: Control negativo + enzima 2P
- Tratamiento 5: Control negativo + enzima 3P
- Tratamiento 6: Control negativo + enzima 4P

En el segundo experimento se aplicaron los siguientes tratamientos:

- Tratamiento 1: Control: 3050 Kcal EM/ kg de alimento en la dieta de iniciación (1-21 días) y 3200 Kcal EM/ kg en la de finalización (22 a 35 días).
- Tratamiento 2: Control negativo (Reducción de Kcal): 2925 Kcal EM/ kg de alimento en la dieta de iniciación y 3025 Kcal EM/ kg de alimento en la de finalización.
- Tratamiento 3: Control negativo + enzima 1C
- Tratamiento 4: Control negativo + enzima 2C
- Tratamiento 5: Control negativo + enzima 3C
- Tratamiento 6: Control negativo + enzima 4C
- Tratamiento 7: Control negativo + enzima 5C
- Tratamiento 8: Control negativo + enzima 6C

4.4 Variables respuesta

Las variables respuesta se refieren a los indicadores de desempeño zootécnicos evaluados y corresponden a:

- Peso de las aves
- Consumo de alimento
- Conversión alimenticia

4.5 Análisis estadístico

Los datos obtenidos fueron sujetos a un análisis estadístico, haciendo uso del software R versión 3.4.3. Una vez ingresados los datos en el software se llevaron a cabo los siguientes análisis, usando un nivel de significancia del 5 % para rechazar la hipótesis nula en todas las pruebas:

a. Diagramas exploratorios: boxplot

b. Prueba de normalidad

Para la validación de normalidad se emplea la prueba de Kolmogorov-Smirnov, la cual es útil para muestras mayores a 50 datos (Kolmogorov-Smirnov, 1967). La hipótesis está dada por:

$$H_0: x \sim (\mu, \sigma^2) \quad (6)$$

Hipótesis para prueba de normalidad de residuales

De acuerdo a los resultados obtenidos, se evalúa que el p-valor sea mayor al valor α , lo que implica el no rechazo de la Hipótesis nula (H_0).

c. Análisis de varianza (ANOVA)

Una vez verificados los supuestos de normalidad se lleva a cabo el análisis de varianza con el fin de identificar si existen diferencias entre los tratamientos aplicados. El

análisis de varianza se realiza por día de toma de datos y por variable de respuesta. La hipótesis a probar en los dos experimentos es la siguiente:

$$H_0 = \mu_1 = \mu_2 = \dots = \mu_k = \mu \quad (7)$$

Todos los tratamientos producen el mismo efecto

$$H_A = \mu_i \neq \mu_j \text{ para algún } i \neq j \quad (8)$$

Al menos uno de los tratamientos produce efectos diferentes

Teniendo en cuenta que puede existir la posibilidad de que el modelo no cumpla con el supuesto de normalidad, se aplica la prueba Kruskal-Wallis, la cual consiste en asignar rangos a las n observaciones y comparar la suma de los rangos por muestra (columna o tratamiento) (Melo, López & Melo, 2007). La técnica de Kruskal-Wallis prueba la hipótesis nula de que las k muestras provienen de la misma población o de poblaciones idénticas con la misma mediana.

Para especificar explícitamente las hipótesis nula y alterna, θ_j debe ser la mediana de la población para el j -ésimo grupo o muestra. Entonces, podemos escribir la hipótesis nula de que las medianas son las mismas como:

$$H_0 = \theta_1 = \theta_2 = \dots \theta_k \quad (9)$$

Y la alternativa como:

$$H_A = \theta_i \neq \theta_j \quad (10)$$

para algunos grupos i y j . Esto es, si la hipótesis alternativa es verdadera, al menos un par de grupos tienen medianas diferentes (Siegel & Castellan, 1998).

d. Validación del supuesto de homogeneidad de varianzas

Para verificar el supuesto de homogeneidad de varianzas se aplica la prueba de Levene.

La hipótesis para este supuesto viene dada por:

$$H_0: \sigma_1^2 = \sigma_2^2 \dots = \sigma_9^2$$

(11)

$$H_a: \sigma_i^2 \neq \sigma_j^2$$

Hipótesis Evaluación homogeneidad de varianzas

e. Validación del supuesto de independencia

Uno de los supuestos que debe cumplir el modelo es la independencia entre los residuos. Para ello, se grafican los residuos contra el orden en el que se colectan los datos (Gutiérrez & De la Vara, 2012). En esta gráfica se verifica que la dispersión de los residuos no tenga ninguna tendencia, es decir, que el comportamiento de los valores es aleatorio; ya que si presenta independencia existirá una correlación entre los valores. Si no se observa aleatoriedad en la gráfica el supuesto de independencia no se cumple, lo cual indica que el modelo no es correcto o presenta deficiencias.

f. Pruebas de comparación múltiple

Cuando el análisis de varianza indica que hay diferencias entre los tratamientos evaluados con las enzimas, se procede a realizar comparaciones entre las medias individuales para determinar diferencias específicas entre los tratamientos.

Se realiza la prueba de Dunnett ya que en los dos experimentos uno de los k tratamientos a comparar es el llamado tratamiento control y el interés fundamental es comparar los $k-1$ tratamientos restantes con dicho control (Gutiérrez & De la Vara, 2012).

5. Resultados y análisis de resultados

Los resultados obtenidos en cada uno de los experimentos se agruparon de acuerdo al día en el cual se tomaron los datos, evaluando las tres variables respuesta de los indicadores zootécnicos propuestos.

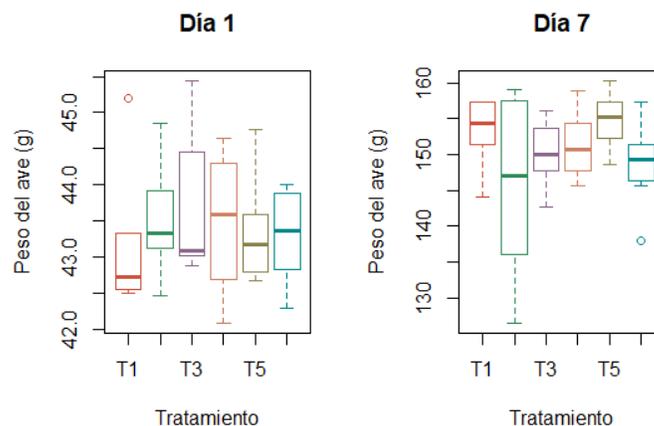
5.1 Efecto de las proteasas

5.1.1 BoxPlot

A continuación, se presentan los boxplot con el propósito de visualizar el comportamiento de las variables respuesta para los resultados obtenidos en los tratamientos con la adición de proteasas:

a. Peso

Los boxplot muestran que la mediana de la variable peso es uniforme en los tratamientos desde el día 1 al día 21. Además, se observa una alta dispersión en el tratamiento No 2 en los días 7 y 21. Al observar la gráfica del día 35 se puede concluir que los tratamientos bajo el efecto de las proteasas con respecto al control no tuvieron efecto al evaluar la variable peso.



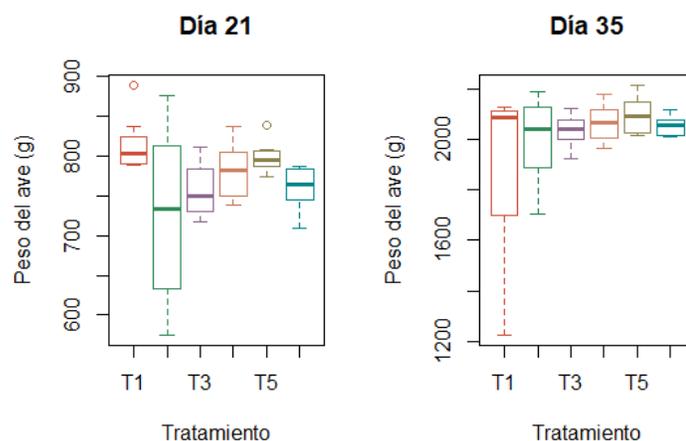


Figura 1. Boxplot variable peso – Efecto de los tratamientos con la adición de proteasas

a. Consumo de alimento

La variable consumo de alimento en el día 1 no tuvo resultados significativos. Se observan diferencias entre las medianas de los tratamientos en el día 7, pero en el día 35 las medianas se ubican entre 3200 y 3400 g, manteniendo valores muy cercanos entre sí en todos los tratamientos.

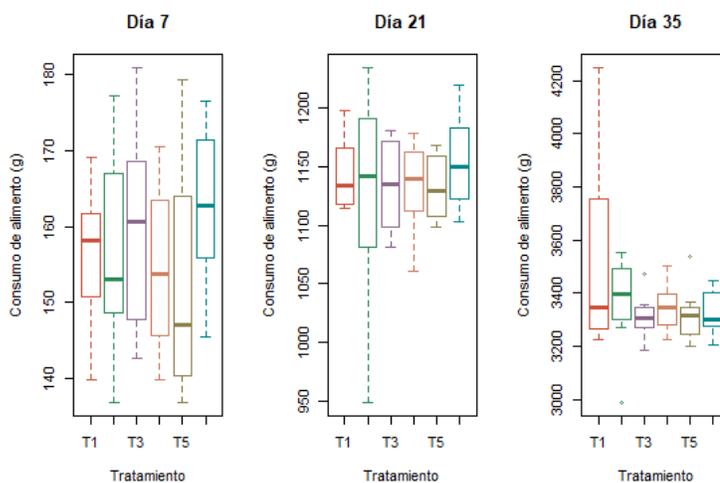


Figura 2. Boxplot variable consumo de alimento (g) - Efecto de los tratamientos con la adición de proteasas

b. Conversión alimenticia

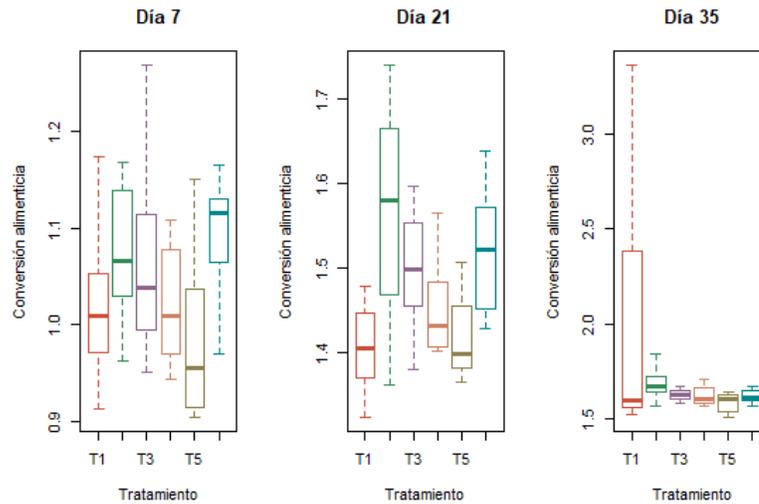


Figura 3. Boxplot variable conversión alimenticia - Efecto de los tratamientos con la adición de proteasas

En la figura 3 se evidencia gran dispersión en los datos, principalmente en los días 7 y 21. Teniendo en cuenta que la conversión alimenticia depende del peso del ave y del consumo de alimento, el comportamiento de los datos en el día 35 sigue la tendencia de las dos variables en cuestión, observándose gran cercanía entre las medianas de los tratamientos.

En conclusión, a partir de los datos descriptivos se establece de manera preliminar, que no existen diferencia entre los resultados experimentales del tratamiento control y los tratamientos con la adición de las proteasas.

5.1.2 Verificación de normalidad

Teniendo en cuenta que las réplicas utilizadas para este estudio son superiores a 50, se realiza la prueba de Kolmogorov-Smirnov. La hipótesis propuesta para esta prueba se define en la ecuación número 6. A continuación, se presentan los resultados de los p-valor obtenidos en cada una de las pruebas, los cuales fueron tomados por día en cada una de las variables respuesta:

Tabla 3. Resultados del p-valor para la prueba de normalidad – Efecto de los tratamientos con la adición de proteasas

Variable respuesta	Día	p-valor	Se rechaza $H_0: x \sim N(\mu, \sigma^2)$ (Si/No)
Peso del ave	1	0.459	No
	7	0.373	No
	21	0.280	No
	35	< 0.01	Si
Consumo de alimento	1	---	---
	7	0.851	No
	21	0.910	No
	35	0.036	Si
Conversión alimenticia	1	---	---
	7	0.911	No
	21	0.301	No
	35	< 0.01	Si

Una vez evaluada el supuesto de normalidad se observa que en todas las variables los residuales del día 35 no siguen una distribución normal. Para estos conjuntos de datos se aplica la prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis, cuyas hipótesis están planteadas en las ecuaciones 9 y 10.

5.1.3 Análisis de varianza

Para los días de las variables respuesta cuya distribución resultó ser normal, de acuerdo a los resultados obtenidos del p-valor (tabla 3), se realiza el análisis de varianza para determinar diferencias entre las medias de los tratamientos por día evaluado. En la tabla 4 se presentan los resultados obtenidos para este análisis:

Tabla 4. Análisis de varianza - Efecto de los tratamientos con la adición de proteasas

Variable respuesta	Día	F ₀	Valor-p	Se rechaza $H_0 = \mu_1 = \mu_2 = \dots = \mu_k = \mu$ (Si/No)
Peso	1	0.452	0.809	No
	7	1.809	0.132	No

	21	2.943	0.023	Si
Consumo de alimento	1		---	
	7	0.718	0.613	No
	21	0.328	0.893	No
Conversión alimenticia	1		---	
	7	2.270	0.065	No
	21	5.244	< 0.01	Si

Teniendo en cuenta los resultados del p-valor se observa que en la mayoría de los días en cada una de las variables no se presentan diferencias significativas entre los tratamientos. Sin embargo, se presentaron diferencias significativas entre tratamientos en las variables respuesta peso y conversión alimenticia en el día 21.

5.1.4 Prueba de Kruskal-Wallis

Al aplicar la prueba de Kruskal-Wallis, en aquellos casos en que no se cumplió el supuesto de normalidad en los resultados de la prueba de Kolmogorov-Smirnov (datos del día 35 en todas las variables respuesta), se obtuvieron los siguientes resultados:

Tabla 5. Resultados de la prueba de Kruskal-Wallis para los datos del día 35 bajo el efecto de las proteasas

Variable respuesta	Día	Valor-p	Se rechaza $H_0 = \theta_1 = \theta_2 = \dots = \theta_k$ (Si/No)
Peso del ave	35	0.784	No
Consumo de alimento	35	0.706	No
Conversión alimenticia	35	0.152	No

A un nivel de significancia del 5%, se observa que los p-valor para todas las variables respuesta son mayores a 0,05. Estos resultados muestran que los datos provienen de una misma población o de poblaciones idénticas con la misma mediana, evidenciando que no hay diferencias entre los tratamientos con respecto a las variables evaluadas en el día 35.

De acuerdo con los resultados obtenidos en el análisis de varianza y en el test de Kruskal-Wallis, se corroboran los resultados obtenidos en los boxplots (Figura 1, 2 y 3), donde al parecer no se observan diferencias entre los tratamientos con la aplicación de proteasas con respecto al tratamiento control. Aunque en el día 21, para las variables peso del ave y conversión alimenticia, se observan diferencias significativas entre los tratamientos (tabla 4), este comportamiento no se mantiene en el día 35, lo cual se evidencia mediante el test de Kruskal-Wallis. Estos resultados permiten concluir que las variables peso, consumo de alimentos y conversión alimenticia no se ven afectadas por la suplementación con proteasas durante los 35 días en los cuales se evaluó el comportamiento en las aves objeto de estudio.

5.1.5 Validación del supuesto de homogeneidad de varianzas

Para probar el supuesto de homogeneidad de varianzas se realiza la prueba de Levene, teniendo en cuenta las hipótesis planteadas en la ecuación 11.

Tabla 6. Resultados prueba de Levene – Efecto de los tratamientos con la adición de proteasas

Variable respuesta	Día	Valor F	Valor-p	Se rechaza $H_0 = \sigma_i^2 = \sigma_j^2$ (Si/No)
Peso	1	0.244	0.940	No
	7	3.084	0.018	Si
	21	8.226	< 0.01	Si
	35	1.689	0.158	No
Consumo de alimento	7	0.558	0.732	No
	21	2.318	0.060	No

	35	1.872	0.120	No
Conversión alimenticia	7	0.442	0.817	No
	21	2.291	0.063	No
	35	2.246	0.067	No

En la prueba de Levene se observa que en la mayoría de los resultados el p-valor es mayor al nivel de significancia del 5 %, lo cual nos indica que las varianzas son homogéneas. Por lo tanto, no se rechaza H_0 y se concluye que las varianzas de los residuales son iguales.

5.1.6 Validación del supuesto de independencia

En las figuras de la 4 a la 7 se evaluó la independencia por medio de la dispersión de los residuos en función de las observaciones. En la mayoría de los casos no se observan tendencias ni comportamientos que sugieran dependencia entre los ellos.

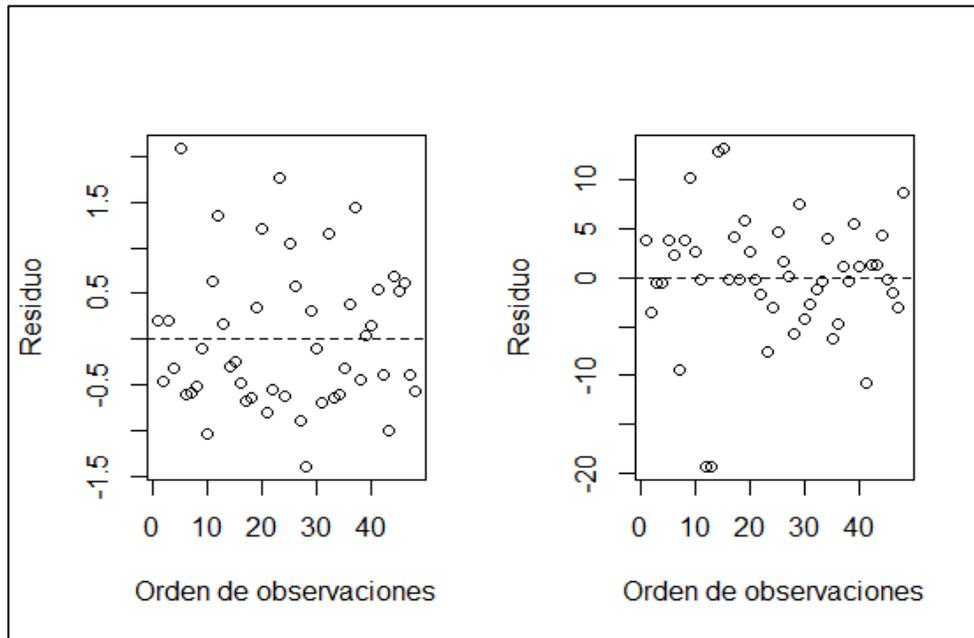


Figura 4. Prueba de independencia para la variable peso, días 1 y 7 – Efecto de los tratamientos con la adición de proteasas

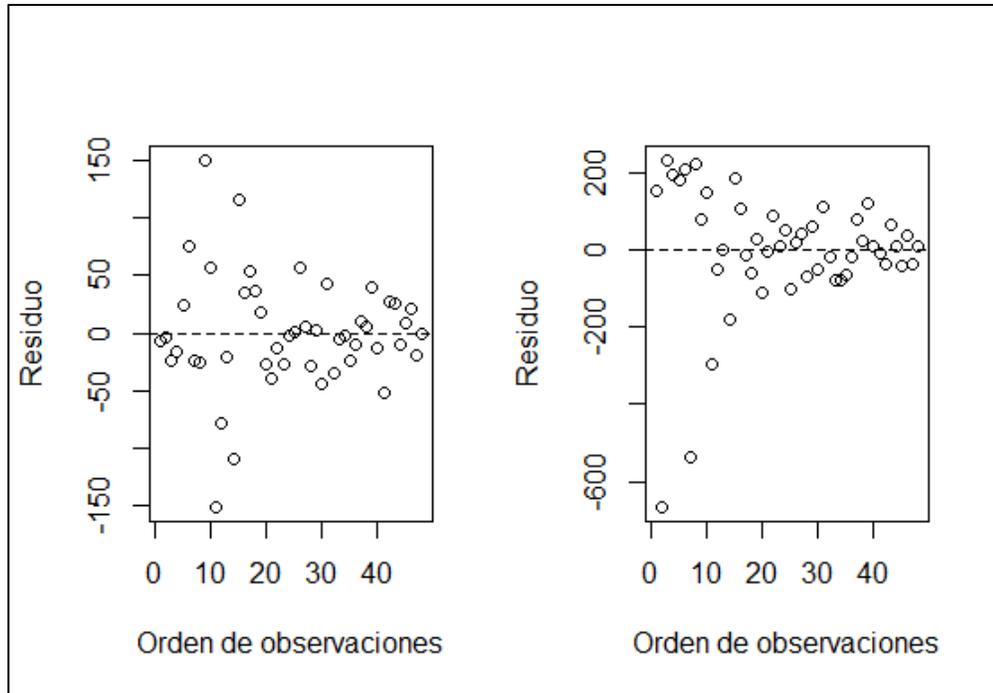


Figura 5. Prueba de independencia para la variable peso, días 21 y 35 – Efecto de los tratamientos con la adición de proteasas

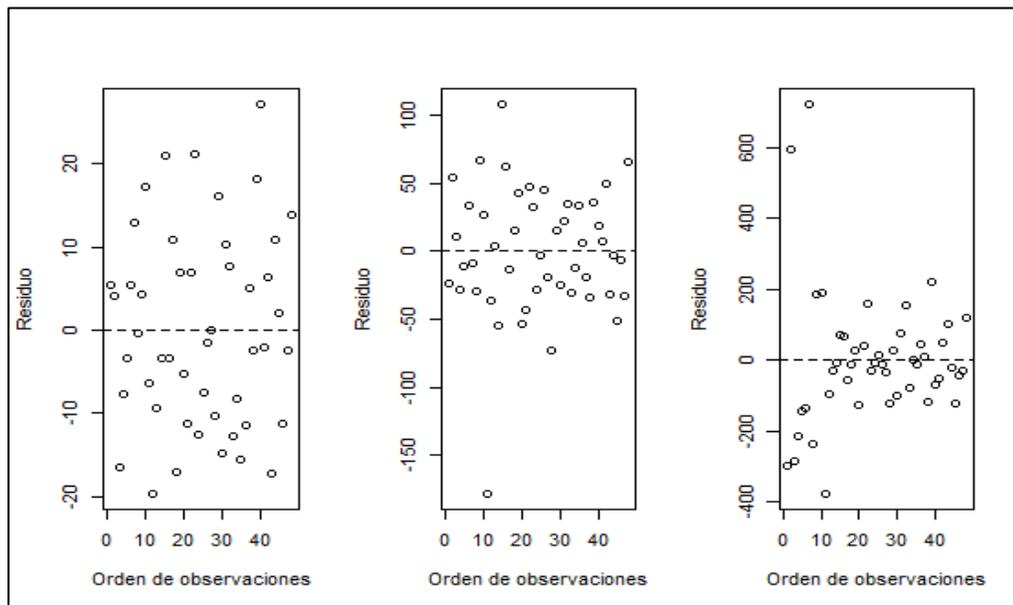


Figura 6. Prueba de independencia para la variable consumo de alimento, días 7, 21 y 35 – Efecto de las proteasas

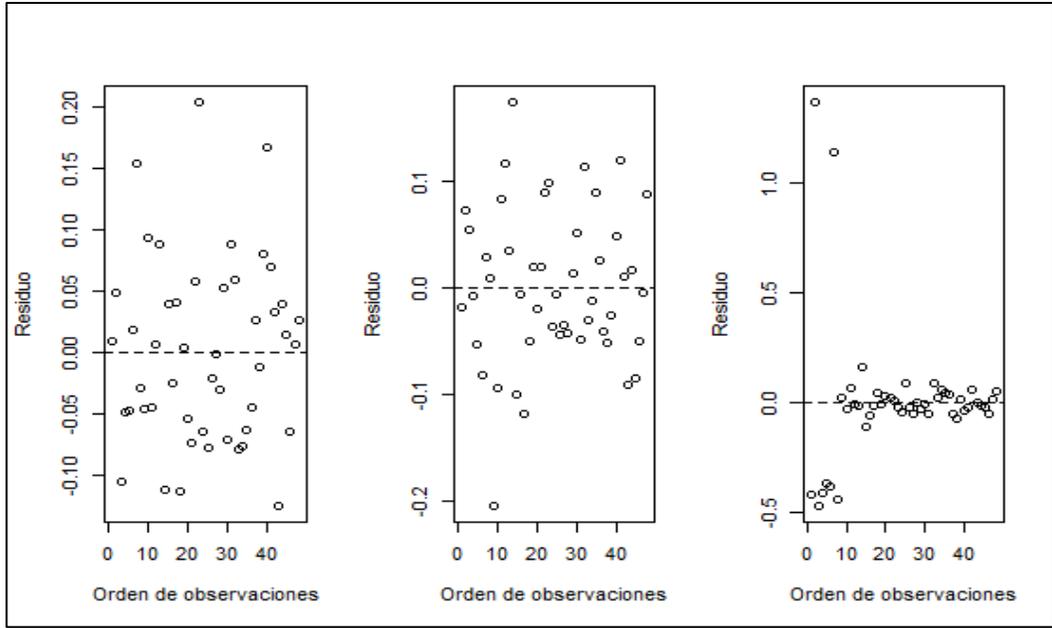


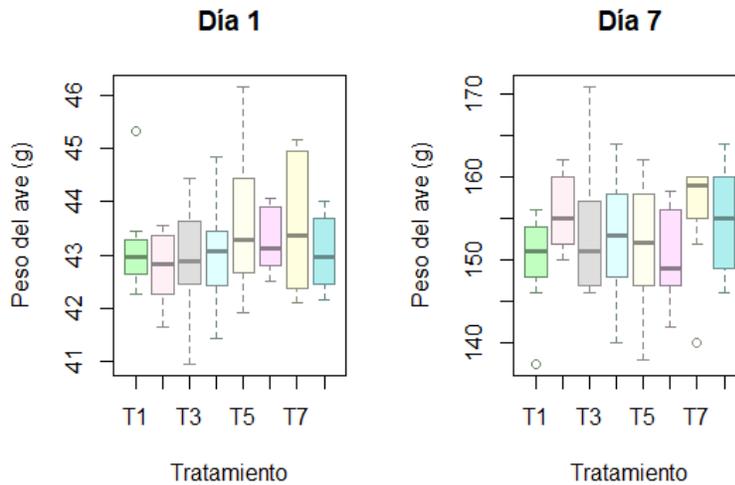
Figura 7. Prueba de independencia para la variable conversión alimenticia, días 7, 21 y 35 – efecto de los tratamientos con la adición de proteasas

5.2 Análisis de carbohidrasas

5.2.1 Boxplot

Las siguientes figuras presentan el análisis descriptivo de los datos obtenidos de los tratamientos con la adición de las carbohidrasas:

a. Peso



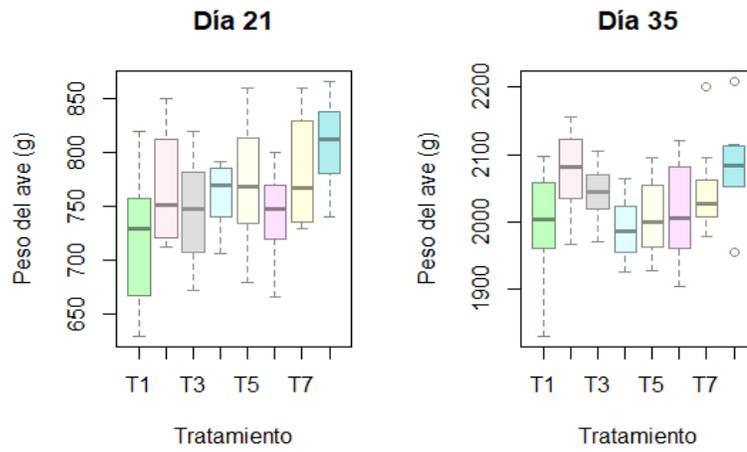


Figura 8. Boxplot variable peso - Efecto de los tratamientos con la adición de carbohidrasas

b. Consumo de alimento

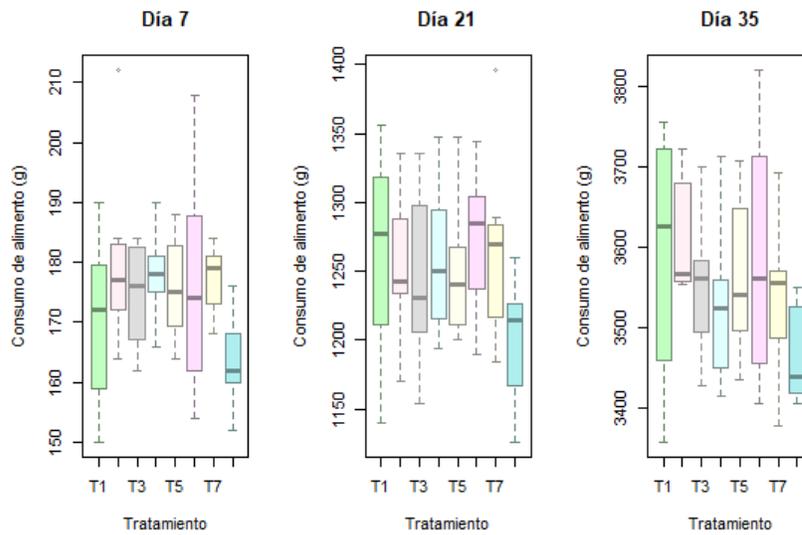


Figura 9. Boxplot variable Consumo de alimento - Efecto de los tratamientos con la adición de carbohidrasas

c. Conversión alimenticia

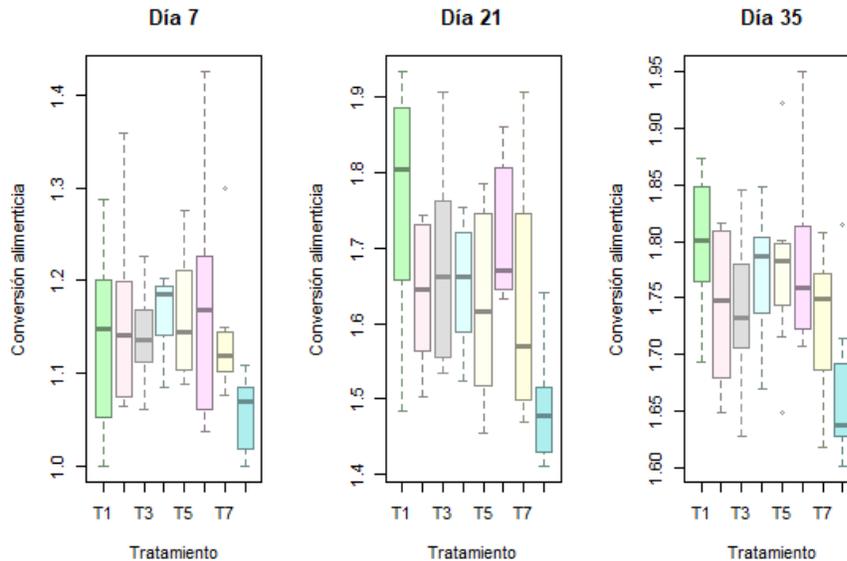


Figura 10. Boxplot variable conversión alimenticia - Efecto de los tratamientos con la adición de carbohidrasas

Las figuras 9, 10 y 11 muestran visualmente el comportamiento de los datos por medio de los diagramas boxplot. En ellos se evidencia una gran dispersión en los datos obtenidos en todos los tratamientos en cada una de las variables evaluadas, con presencia de datos atípicos. En todas las variables se observa una diferencia marcada entre la media del tratamiento control (T1) y el tratamiento 8 (T8) a partir del día 21 y se mantiene esta tendencia en el día 35.

5.2.2 Prueba de normalidad

Teniendo en cuenta que el análisis de los residuales es una forma de evaluar qué tan adecuado es el modelo, se procede a probar la normalidad de los mismos por medio de la prueba de Kolmogorov-Smirnov (datos mayores a 50). Los resultados se presentan en la siguiente tabla:

Tabla 7. Resultados del p-valor para la prueba de normalidad – Efecto de los tratamientos con la adición de carbohidrasas

Variable respuesta	Día	p-valor	Se rechaza $H_0: x \sim N(\mu, \sigma^2)$ (Si/No)
Peso del ave	1	0.369	No
	7	0.430	No
	21	0.998	No
	35	0.978	No
Consumo de alimento	1	---	No
	7	0.565	No
	21	0.936	No
	35	0.140	No
Conversión alimenticia	1	---	No
	7	0.587	No
	21	0.460	No
	35	0.830	No

Estos resultados muestran que los residuales obtenidos de los datos en todas las variables respuesta siguen una distribución normal. Por lo tanto, es posible continuar con el análisis de varianza para las variables en los días evaluados para encontrar diferencias significativas entre tratamientos.

5.2.3 Análisis de varianza

Tabla 8. Análisis de varianza - Efecto de los tratamientos con la adición de carbohidrasas

Variable respuesta	Día	F ₀	Valor-p	Se rechaza $H_0 = \mu_1 = \mu_2 = \dots = \mu_k = \mu$ (Si/No)
Peso	1	0.751	0.651	No
	7	0.908	0.507	No
	21	2.299	0.039	Si
	35	2.314	0.038	Si
Consumo de alimento	1		--	
	7	1.749	0.116	No
	21	1.261	0.286	No
	35	1.503	0.185	No

	1		--	
Conversión	7	1.67	0.135	No
alimenticia	21	3.755	0.002	Si
	35	3.035	0.009	Si

En el análisis de varianzas de medias de un factor bajo un nivel de significancia del 5 %, se logró establecer estadísticamente que existen diferencias significativas entre los tratamientos en las variables peso del ave y conversión alimenticia para los días 21 y 35.

5.2.4 Validación del supuesto de homogeneidad de varianzas

Para probar el supuesto de homogeneidad de varianzas de los residuales bajo el efecto de las carbohidrasas, se realiza la prueba de Levene.

Tabla 9. Resultados prueba de Levene – Efecto de los tratamientos con la adición de carbohidrasas

Variable respuesta	Día	Valor F	Valor-p	Se rechaza $H_0 = \sigma_i^2 = \sigma_j^2$ (Si/No)
	1	0.962	0.468	
Peso del ave	7	0.425	0.883	
	21	0.776	0.610	
	35	0.496	0.834	
	Consumo de alimento	7	1.710	0.125
	21	0.363	0.920	
	35	1.997	0.071	
Conversión alimenticia	7	1.738	0.119	
	21	1.081	0.388	
	35	0.119	0.997	

De acuerdo con estos resultados, se establece que los datos en este estudio cumplen con el supuesto de homogeneidad.

5.2.5 Validación del supuesto de independencia

Al igual que los resultados obtenidos en la prueba de independencia del experimento con proteasas, en las figuras de los residuales del experimento con carbohidrasas se observan datos aleatorios alrededor del eje, evidenciando que no hay dependencia entre los errores.

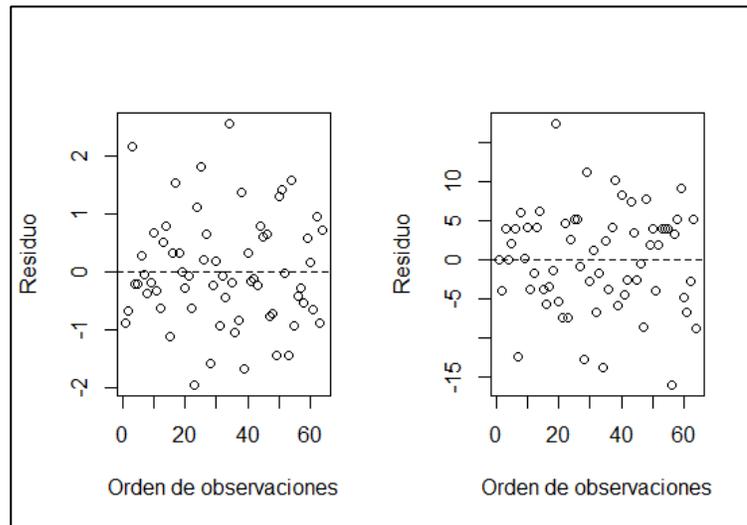


Figura 11. Prueba de independencia para la variable peso, días 1 y 7 – Efecto de los tratamientos con la adición de carbohidrasas

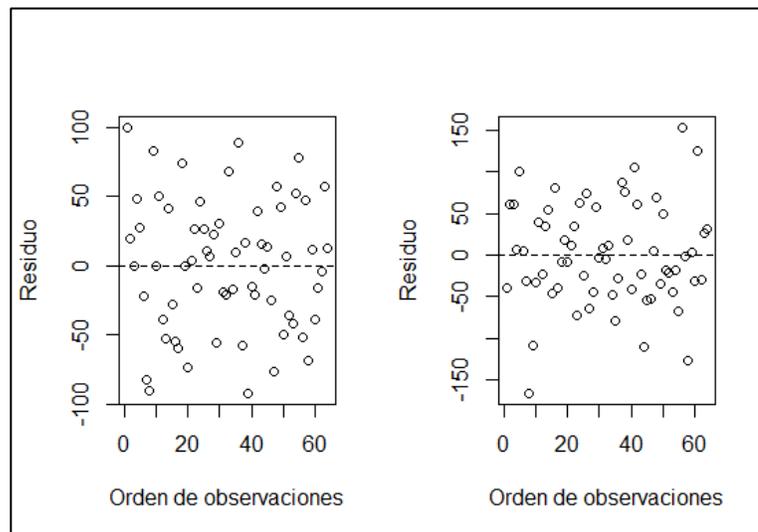


Figura 12. Prueba de independencia para la variable peso, días 21 y 35 – Efecto de los tratamientos con la adición de carbohidrasas

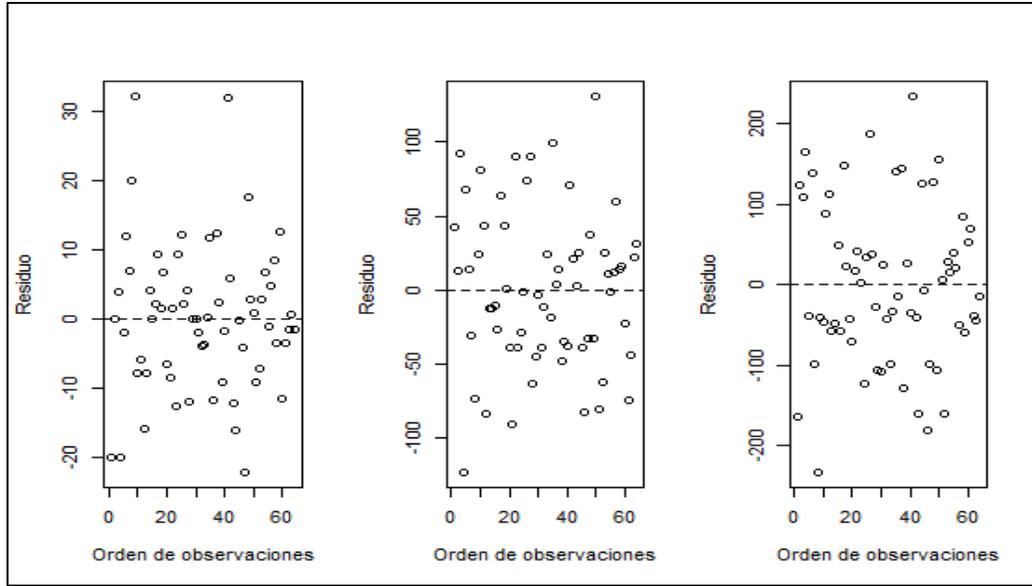


Figura 13. Prueba de independencia para la variable consumo de alimento, días 7, 21 y 35 – Efecto de los tratamientos con la adición de carbohidrasas

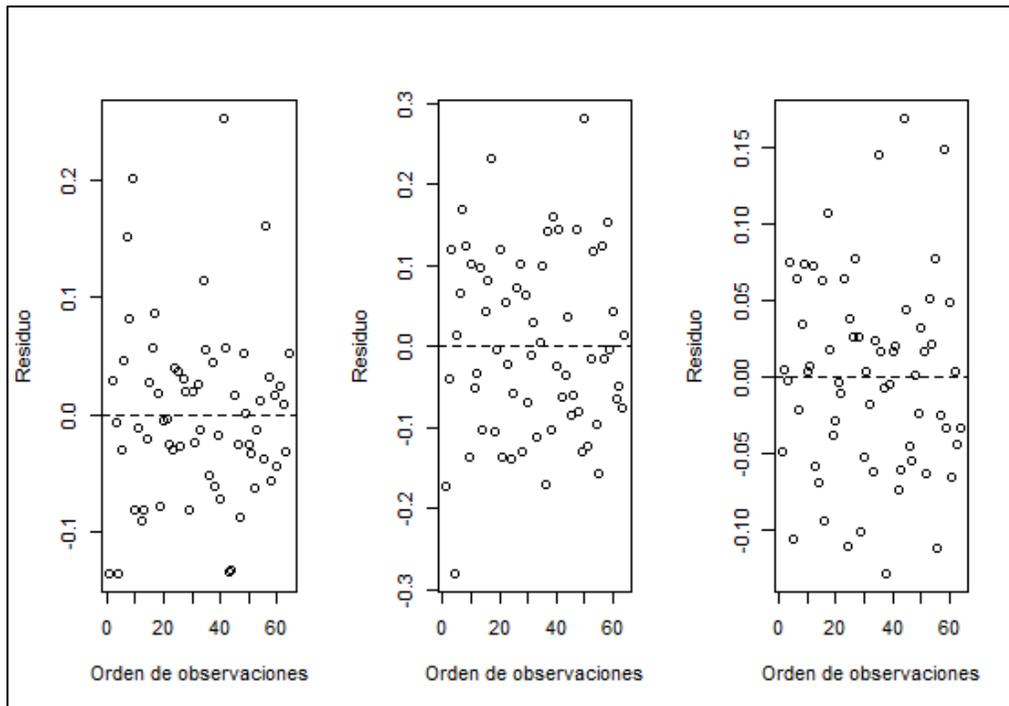


Figura 14. Prueba de independencia para la variable conversión alimenticia, días 7, 21 y 35 – Efecto de los tratamientos con la adición de carbohidrasas

5.2.6 Comparaciones múltiples

Se realizó una prueba de comparaciones múltiples, empleando el método de Dunnett para seleccionar cuál o cuáles de todos los tratamientos aplicados son tan buenos o mejores que el tratamiento testigo (T1).

Tabla 10. Resultados de la prueba de Dunnett para comparaciones múltiples día 21, variable peso– Efecto de los tratamientos con la adición de carbohidrasas

Comparación de los tratamientos con el control (T1)	t-valor	p-valor	Se rechaza $H_0 = \mu_{T_i} = \mu_{T_1}$ (Si/No)
T2 – T1	1.852	0.296	No
T3 – T1	1.030	0.839	No
T4 – T1	1.649	0.413	No
T5 – T1	2.051	0.206	No
T6 – T1	0.901	0.906	No
T7 – T1	2.458	0.088	No
T8 – T1	3.530	0.005	Si

Tabla 11. Resultados de la prueba de Dunnett para comparaciones múltiples día 35, variable peso – Efecto de los tratamientos con la adición de carbohidrasas

Comparación de los tratamientos con el control (T1)	t-valor	p-valor	Se rechaza $H_0 = \mu_{T_i} = \mu_{T_1}$ (Si/No)
T2 – T1	2.392	0.102	No
T3 – T1	1.433	0.560	No
T4 – T1	-0.193	1.000	No
T5 – T1	0.321	0.999	No
T6 – T1	0.558	0.991	No
T7 – T1	1.523	0.497	No
T8 – T1	2.636	0.058	~ Si

Tabla 12. Resultados de la prueba de Dunnett para comparaciones múltiples día 21, conversión alimenticia – Efecto de los tratamientos con la adición de carbohidrasas

Comparación de los tratamientos con el control (T1)	t-valor	p-valor	Se rechaza $H_0 = \mu_{T_i} = \mu_{T_1}$ (Si/No)
T2 – T1	-2.086	0.192	No
T3 – T1	-1.515	0.502	No
T4 – T1	-1.886	0.279	No
T5 – T1	-2.347	0.112	No
T6 – T1	-0.792	0.947	No
T7 – T1	-2.341	0.114	No
T8 – T1	-4.685	< 0.01	Si

Tabla 13. Resultados de la prueba de Dunnett para comparaciones múltiples día 35, conversión alimenticia – Efecto de los tratamientos con la adición de carbohidrasas

Comparación de los tratamientos con el control (T1)	t-valor	p-valor	Se rechaza $H_0 = \mu_{T_i} = \mu_{T_1}$ (Si/No)
T2 – T1	-1.688	0.389	No
T3 – T1	-1.788	0.331	No
T4 – T1	-0.828	0.935	No
T5 – T1	-0.648	0.981	No
T6 – T1	-0.540	0.993	No
T7 – T1	-2.042	0.209	No
T8 – T1	-3.928	0.001	Si

Los resultados obtenidos muestran en las variables peso del ave y conversión alimenticia que efectivamente a partir del día 21 se observa un efecto de las carbohidrasas aplicadas en el tratamiento No 8 sobre los resultados de los indicadores zootécnicos mencionados, y este comportamiento se mantiene hasta el día 35.

6. Conclusiones y recomendaciones

6.1 Conclusiones

De acuerdo al análisis de resultados obtenido, se concluye lo siguiente:

- Se evidenciaron diferencias significativas en el día 21 bajo el efecto de las proteasas para las variables peso del ave y conversión alimenticia. Sin embargo, este efecto no se mantuvo en el día 35, por lo cual se puede concluir que los tratamientos con la adición de proteasas no tuvieron efecto alguno sobre las variables evaluadas con relación al tratamiento control.
- Aunque estadísticamente no se alcanzó a detectar diferencias en las variables respuesta entre los tratamientos evaluados, sí hubo efecto de las enzimas sobre el sustrato, ya que los tratamientos que contenían éstas se igualaron al tratamiento control, de forma que provocaron que el ave aprovechara el alimento consumido con mayor eficiencia a pesar de la reducción de proteína.
- A partir del análisis estadístico de las variables respuesta (peso del ave y conversión alimenticia), es posible concluir que en el experimento 2, donde se evaluó el efecto de carbohidrasas, se evidenciaron diferencias significativas entre el tratamiento número 8 y el tratamiento control a partir del día 21, y estas diferencias se mantuvieron hasta el final del experimento (día 35).
- Se apreció un efecto positivo del tratamiento número 8 en el experimento 2, expresado en un incremento del peso del ave y disminución de la conversión alimenticia comparado con el tratamiento control.
- Se identificó que la variable consumo de alimento no se ve afectada por la adición de enzimas al alimento de las aves en los dos experimentos.

- No fue posible seleccionar ninguna de las enzimas comerciales evaluadas del tipo proteasa ya que no tuvieron efecto alguno sobre los indicadores de desempeño zootécnico evaluados. Por su parte, se seleccionaron las enzimas de tipo carbohidrasas aplicadas en el tratamiento número 8 por presentar efectos positivos en comparación con el tratamiento control.

6.2 Recomendaciones

- Evaluar el manejo en planta de la aplicación de las enzimas tipo proteasas, ya que es posible que por su naturaleza las enzimas se degraden durante el procesamiento del alimento y no sean funcionales al momento de ser consumidas por las aves.
- Hacer experimentos aplicando los dos tipos de enzimas simultáneamente, para determinar efectos sinérgicos entre las proteasas y las carbohidrasas.

7. Referencias

- Acosta, A., & Cárdenas, M. (2006). Enzimas en la alimentación de las aves. Fitasas. *Revista Cubana de Ciencia Agrícola*, 40 (4). 377-387. Recuperado de <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=193017672001>
- Altech. (30 de junio de 2016). La evolución de la enzima en la alimentación animal. [Entrada de blog]. Recuperado de <https://es.alltech.com/blog/posts/la-evolucion-de-la-enzima-en-la-alimentacion-anim>
- Bedford, M. R. (2000). Exogenous enzymes in monogastric nutrition – their current value and future benefits. *Animal Feed Science and Technology*. 86 (1-2). 1- 13. doi: [10.1016/S0377-8401\(00\)00155-3](https://doi.org/10.1016/S0377-8401(00)00155-3)
- Castanon, J. I. R. (2007). Review. History of the use of antibiotic as growth promoters in european poultry feeds. *Poultry Science*, 86. 2466-2471. doi:10.3382/ps.2007-00249.
- Celi, P., Cowieson, A. J., Fru-Nji, F., Steinert, R. E., Klünter, A. M., & Verlhac, V. (2017). Gastrointestinal functionality in animal nutrition and health: New opportunities for sustainable animal production. *Animal Feed Science and Technology*, 234. 88-100. doi: 10.1016/j.anifeedsci.2017.09.012.
- Cuca, M., Ávila, E., & Pro, A. (2009). *Alimentación de las aves*. Texcoco: Universidad Autónoma Chapingo.
- De Paz, I. M. (2007). Evaluación de dos complejos enzimáticos en el comportamiento productivo de pollos de engorde alimentados con una dieta a base de maíz y pastas de soya bajo condiciones comerciales. (Trabajo de grado, Universidad de San Carlos de Guatemala). Recuperado de <http://www.repositorio.usac.edu.gt/3691/1/Tesis%20Lic%20Zoot%20Inger%20De%20Pa%20Contreras.pdf>

Elizarraraz, R. (1999). Efecto de la suplementación de enzimas en la dieta para pollo de engorda sobre los parámetros productivos. (Tesis de maestría, Universidad de Colima).

Recuperado de

http://digeset.ucol.mx/tesis_posgrado/Pdf/Rogelio%20Elizarraraz%20Vargas.pdf

Engormix. (11 de noviembre de 2014). Conversión Alimenticia, ¿Qué tanto me impacta en la rentabilidad? [Artículos técnicos]. Recuperado de

<https://www.engormix.com/porcicultura/articulos/conversion-alimenticia-que-tanto-t31653.htm>

Gómez, R., Cortés, A., López, C., & Ávila, E. (2011). Evaluación de tres programas de alimentación para pollos de engorda con base en dietas sorgo-soya con distintos porcentajes de proteína. *Veterinaria México*, 42 (4). 299-309. Recuperado de

http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0301-50922011000400005&lang=pt

Gutiérrez, H., & De la Vara, R. (2012). *Análisis y diseño de experimentos*. 3ª ed. México: McGraw Hill.

Kamel, N. F., Ragaa, N. M., El-Banna, R. A., & Mohamed F.F. (2015). Effects of a monocomponent protease on performance parameters and protein digestibility in broiler chickens. *Agriculture and Agricultural Science Procedia*, 6. 216 – 225. Recuperado de www.sciencedirect.com

Kuehl, O. R. (2001). *Diseño de experimento: principios estadísticos de diseño y análisis de investigación*. 2ª ed. México: Thomson Learning.

Leeson, S., Summers, J. D., & Diaz, G. J. (2000). *Nutrición aviar comercial*. Bogotá: Le'Print Club Express Ltda.

- López, E. A., & González, B. H. (2013). *Diseño y análisis de experimentos. Fundamentos y aplicaciones en agronomía*. Recuperado de https://issuu.com/byrong/docs/dise_o_y_an_lisis_de_exp.2_ed_2013/225
- Mahmood, T., Mirza, M. A., Nawaz, H., & Shahid, M. (2017). Effect of different exogenous proteases on growth performance, nutrient digestibility, and carcass response in broiler chickens fed poultry by-product meal-based diets. *Livestock Science*, 200. 71-75. doi: 10.1016/j.livsci.2017.04.009
- Melo, O. O., López, L. A., & Melo, S. E. (2007). *Diseño de experimentos: métodos y aplicaciones*. Recuperado de http://library1.org/_ads/F27176CE46AA1531B3362A7CA3863D50
- Montgomery, D. (2004). *Diseño y análisis de experimentos*. 2ª ed. México: Limusa Wilwy.
- Palmer, T., & Bonner, P. L. (2014). *Enzymes Biochemistry, Biotechnology, Clinical Chemistry*. Recuperado de <https://www-sciencedirect-com.ezproxy.unal.edu.co/science/article/pii/B9781904275275500015>
- Roofchaei, A., Rezaeipour, V., Vatandour, S., & Zaefarian, F. (2017). Influence of dietary carbohydrases, individually or in combination with phytase or an acidifier, on performance, gut morphology and microbial population in broiler chickens fed a wheat-based diet. *Animal Nutrition*, 1-5. doi: 10.1016/j.animu.2017.12.001.
- Sabatier, A. M., & Fish, N. M. (1996). Method of analysis for feed enzymes: methodological problems? *Applied Poultry Science*, 5 (4). 408-413. doi: 10.1093/japr/5.4.408.
- Siegel, S., & Castellan J. (1998). *Estadística no paramétrica aplicada a las ciencias de la conducta*. 4ª ed. México: Editorial Trillas.

Stefanello, C., Vieira, S. L., Rios, H. V., Simoes, C. T., Ferzola, P. H., Sorbara, J. O. B., & Cowieson, A. J. (2017). Effects of energy, α -amylase, and β -xylanase on growth performance of broiler chickens. *Animal Feed Science and Technology*, 225. 205–212.

Universidad de las Palmas de Gran Canaria (s. f.) Nutrición animal. Recuperado de:

<http://www.webs.ulpgc.es/nutranim/tema12.htm>