

## Efecto de la estrategia de conservación en la calidad nutritiva de la harina de la lombríz roja (*Eisenia* spp.) a mediano plazo

Effect of the storage strategy on the nutritional quality of red worm meal (*Eisenia* spp.) to medium term

L.J. Cova<sup>1</sup>, D.E. García<sup>2</sup>, J.V. Scorza D.<sup>1</sup>, M.G. Medina<sup>2</sup>,  
T. Clavero<sup>3</sup>, F. Perea<sup>4</sup> y D. González<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Instituto Experimental "José Witremundo Torrealba", Universidad de los Andes, Avenida Medina Angarita. Sector Carmona, Trujillo, estado Trujillo, Venezuela

<sup>2</sup>Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas (INIA), Trujillo, Venezuela

<sup>3</sup>Facultad de Agronomía, Universidad del Zulia, Zulia, Venezuela

<sup>4</sup>Núcleo Universitario "Rafael Rangel", Universidad de los Andes, Trujillo, Venezuela

### Resumen

Se evaluó el efecto de cuatro estrategias de conservación ( $C_1$ : a temperatura ambiente sin aditivos,  $C_2$ : en refrigeración ( $5^{\circ}\text{C}$ ),  $C_3$ : a temperatura ambiente al vacío y  $C_4$ : a temperatura ambiente con metil y etil parabenos) en la calidad de la harina de la Lombriz Roja (*Eisenia* spp.), mediante un diseño completo al azar y medidas repetidas en el tiempo ( $T_0$ : inicio,  $T_1$ : 2 meses,  $T_2$ : 4 meses,  $T_3$ : 6 meses) en el estado Trujillo Venezuela. Se cuantificó la concentración de proteína bruta (PB), proteína verdadera (PV), proteína soluble (PS), energía bruta (EB), minerales (Ca, P, Mg, K, Fe, Cu, Mn, Zn), cenizas totales, grasas totales (GrT), ácidos grasos saturados (AGS), ácidos grasos mono-insaturados (AGI), y ácidos grasos poli-insaturados (AGP). Se estimó la digestibilidad *in vitro* (DIVMS, DIVPB) y la degradabilidad ruminal *in situ* (DgMS, DgPB). No se observaron diferencias significativas entre tratamientos en la fracción proteica, EB, AGS, minerales, cenizas totales, digestibilidad y degradabilidad ruminal ( $P > 0,05$ ). Sin embargo, los niveles de GrT, AGI y AGP disminuyeron significativamente con  $C_1$ ,  $C_2$  y  $C_4$  a los 2, 4 y 6 meses ( $P < 0,05$ ). Aunque la harina presentó estabilidad a mediano plazo en la fracción proteica (PB $_{T_0}$ : 57,16% vs. PB $_{T_3}$ : 57,14%; DIVPB $_{T_0}$ : 70,41% vs. DIVPB $_{T_3}$ : 70,00%; DgPB $_{T_0}$ : 49,65% vs. DgPB $_{T_3}$ : 48,53%), mediante el almacenamiento a temperatura ambiente, al vacío y con la adición de metil y etil parabenos se afecta el perfil de ácidos grasos

Recibido el 16-7-2008 • Aceptado el 28-11-2008

Autor de correspondencia e-mail: dagamar8@hotmail.com

insaturados a partir de los 2 meses. Se especula que la disminución de esta fracción se deba a la peroxidación de lípidos.

**Palabras clave:** Conservación de harina, *Eisenia*, suplemento proteico, estudio de almacenamiento, composición nutricional.

## Abstract

The effect of four conservation strategies ( $C_1$ : at room temperature without preservatives,  $C_2$ : in cold condition ( $5^\circ\text{C}$ ),  $C_3$ : at room temperature and hole pressure,  $C_4$ : at room temperature with preservative (methyl and ethyl paraben)) on the quality of the Red Worm (*Eisenia* spp.) meal were studied during six months, by using a complete randomized design and measures repeated in the time ( $T_0$ : initial,  $T_1$ : 2 months,  $T_2$ : 4 months,  $T_3$ : 6 months) in Trujillo state, Venezuela. The crude protein (CP), true protein (TP), soluble protein (SP), total fats (TF), saturated fatty acids (SFA), mono-insaturated fatty acids (MFA), poly-insaturated fatty acids (PFA), gross energy (GE), minerals (Ca, P, Mg, K, Fe, Cu, Mn, Zn) and total ashes (TA) were quantified. Digestibility with pepsine and pancreatine (IVDDM, IVDCP) and *in situ* rumen degradability (DMDg, CPDg) were evaluated. No significant differences among treatments in the proteic fraction (CP, TP, SP), GE, SFA, minerals, total ashes, *in vitro* digestibility and rumen degradation were observed ( $P>0.05$ ) during the experimental period. However, the TF, MFA and PFA level diminished significantly with  $C_1$ ,  $C_3$  and  $C_4$  to the 2, 4 and 6 months ( $P<0.05$ ). Although *Eisenia* spp. meal showed stability to medium term in the proteic fraction ( $\text{CP}_{T_0}$ : 57.16% vs.  $\text{CP}_{T_3}$ : 57.14%;  $\text{IVDCP}_{T_0}$ : 70.41% vs.  $\text{IVDCP}_{T_3}$ : 70.00%;  $\text{PCDg}_{T_0}$ : 49.65% vs.  $\text{PCDg}_{T_3}$ : 48.53%), using room temperature storage, at room temperature storage and hole pressure and with methyl and ethyl paraben addition, the insaturated fatty acids profiles its affected to the 2 months. It is speculated that the lipidic fraction decrease due to the lipids peroxidation during the storage.

**Key words:** meal conservation, *Eisenia*, proteic supplement, storage study, nutritional composition.

## Introducción

La evaluación de alimentos no convencionales en el trópico que sirvan como suplemento esencialmente proteico para la alimentación animal, se ha convertido en una línea de investigación de prioritaria importancia en las últimas décadas (García *et al.*, 2008; Godoy y Chicco, 1991; Tacón *et al.*, 1983).

## Introduction

No conventional feeding evaluation in tropic that work as a supplement essentially proteic for animal nutrition, has become in a research line of high importance in the last decades (García *et al.*, 2008; Godoy and Chicco, 1991; Tacón *et al.*, 1983).

Even though foliage of many

Aun cuando el follaje de muchas especies herbáceas, arbustivas, arbóreas y algunos desechos agroindustriales constituyen alternativas viables; los contenidos de proteínas en la mayoría de estos recursos son inferiores al 20%, lo cual dificulta su uso en la alimentación de animales monogástricos que presentan elevados requerimientos nutricionales (Dierick *et al.*, 1985).

En este sentido, con la implementación de la lombricultura como estrategia para el procesamiento de desechos orgánicos, la harina de la Lombriz Roja (*Eisenia* spp.) se perfila como una fuente proteica de alta calidad nutritiva y valor biológico. Los análisis químicos de su carne han mostrado una elevada concentración de proteínas (>50%) y de aminoácidos esenciales, por lo que ha sido recomendada tempranamente en la nutrición de roedores, aves, peces, reptiles, anguilas, anfibios, mascotas domésticas y pequeños rumiantes (Ferruzzi, 1987; Velásquez *et al.*, 1986; Vielma-Rondón *et al.*, 2001; Vielma-rondón *et al.*, 2003a; Vielma-Rondón *et al.*, 2003b).

Aunque existen investigaciones desarrolladas en Venezuela que describen la composición nutricional de esta carne (Medina y Araque, 1999), existe poca información relacionada con la estabilidad del producto en el tiempo y la posible degradación de los compuestos presentes, lo cual podría traer consigo la disminución de la calidad de este alimento. Asimismo, debido a las particularidades que presenta el proceso de obtención de la harina del anélido a escala comercial, es imprescindible contar con un pro-

herbaceous, shrubs, arboreal and some agro industrial wastes constitutes a viable alternative; the proteins contents in the most of these resources are lower to 20%, which makes difficult its usage on monogastric animals feeding that shows high nutritional requirements (Dierick *et al.*, 1985).

In this sense, with the implementation of lumbriculture as strategy to processing of organic wastes, the Red Earthworm (*Eisenia* spp.) flour appears like a protein source of high nutritive quality and biological value. The chemical analysis of meat have shown a high protein concentration (>50%) and essential amino acids, so, it has been early recommended in rodents, birds, fishes, reptiles, eels, amphibian, domestic pets and little ruminants feeding (Ferruzzi, 1987; Velásquez *et al.*, 1986; Vielma-Rondón *et al.*, 2001; Vielma-rondón *et al.*, 2003a; Vielma-Rondón *et al.*, 2003b).

Although there are researches developed in Venezuela that describes the nutritional composition of this meat (Medina and Araque, 1999), there are little information related to the stability of product on time and the possible degradation of compounds present which could produce the decrease of this feed quality. Likewise, due to the particularities that the obtaining process of annelid flour shows to commercial scale, it is essential to count with a effective procedure for conservation of considerable volumes.

For these reasons, the objective of this research was to determine the effect of four strategies of conservation

cedimiento efectivo para la conservación de volúmenes considerables.

Por tales motivos, el objetivo del presente trabajo fue determinar el efecto de cuatro estrategias de conservación en la calidad nutritiva de la harina de *Eisenia* spp a media plazo en el estado Trujillo, Venezuela.

## Materiales y métodos

### Ubicación

El estudio se desarrolló en el Laboratorio de Parasitología del Instituto de Investigación "José Witremundo Torrealba", del Núcleo Universitario "Rafael Rangel", el cual pertenece a la Universidad de los Andes. El Laboratorio se encuentra localizado en el Sector Carmona de la Ciudad de Trujillo, estado Trujillo a 800 msnm, temperatura media anual de 25,2°C y 69% de humedad relativa.

### Cría de las lombrices

*Eisenia* spp. fue alimentada durante cuatro meses semanalmente con 0,05 m<sup>3</sup> en un sustrato formado por estiércol bovino (96%) + cepa de plátano *Musa* spp. (3%) + cepa de caña *Saccharum officinarum* (1%), dentro de un cantero techado de 2,5 m de largo, 1 m de ancho y 0,6 m de profundidad; donde 0,15 m del fondo inclinado fue cubierto por bloques de arcilla (16 x 20 x 15 cm) con sacos de fibra de nailon para permitir el drenaje. La parte superior del cantero se protegió con un armazón de madera y tela fina de alambre, encima se colocaron láminas aislantes de Acerolit® para protección tanto de las aves y para la conservación del a humedad en función de los riegos diarios.

in the nutritive quality of *Eisenia* spp flour at medium term in Trujillo state, Venezuela.

## Materials and methods

### Location

Study was carried out in the Parasitology Laboratory of the Institute of Research "José Witremundo Torrealba", of the University Nucleus "Rafael Rangel", which belongs to Andes University. The laboratory is located in the Carmona sector of Trujillo city, Trujillo state at 800 msnm, annual medium temperature of 25.2°C and 69% of relative moisture.

### Earthworm breed

*Eisenia* spp. was weekly feed during four months with 0.05 m<sup>3</sup> in a substrate formed by bovine manure (96%) + plantain *Musa* spp. strain (3%) + sugarcane *Saccharum officinarum* strain (1%), inside of an under cover seed bed of 2.5 m long, 1 m width and 0.6 m depth; in where 0.15 m of inclined bottom was covered by clay blocks (16 x 20 x 15 cm) with sacks of nylon fiber for permitting drainage. The superior part of seed bed was protected with a wood frame and fine material of wire; isolated sheets of Acerolit® were placed above for protecting birds and for preserving from moisture as a function of daily irrigations.

### Flour obtaining

8 kg of biomass were used for flour making, from which 1 kg of dehydrated material (lightly hygroscopic with texture oleose) was obtained. Earthworms were deeply washed with distilled water during 15

### **Obtención de la harina**

Se utilizaron 8 kg de biomasa para la confección de la harina, del cual se obtuvo 1 kg de material deshidratado (ligeramente higroscópico con textura oleosa). Las lombrices se lavaron profusamente con agua destilada durante 15 minutos y fueron depositadas en varios beaker de 5 L con suficiente agua desionizada (25°C) hasta la evacuación total del bolo alimenticio (12 horas), prescindiendo del burbujeo de O<sub>2</sub>. Se sacrificaron mediante tratamiento térmico (0°C) por 18 horas; al día siguiente se colocaron en bandejas plásticas y se expusieron al sol para su presecado durante 8 horas. Después fueron colocadas en una estufa (YRH 02-3, Kaltein) con ventilación forzada a 60°C por 12 horas y posteriormente molidas en un molino de pitones tipo corona (04/249, marca Royal Triumph).

### **Unidades experimentales y tratamientos**

Se utilizaron 65 frascos (capacidad 50 mL) de color ámbar para cada tratamiento (C<sub>1</sub>: conservación a temperatura ambiente, C<sub>2</sub>: conservación en refrigeración (5°C), C<sub>3</sub>: conservación a temperatura ambiente al vacío y C<sub>4</sub>: conservación con preservativo con nipagín y nipasol sódico (Protokimia Co., Medellín, Antioquia, Colombia). En cada unidad fueron depositados 20 g de harina deshidratada para posteriormente taparlos herméticamente de forma manual mediante una tapadora ajustable (Crimper, USA).

Cada frasco constituyó una réplica. Al inicio del ensayo se analizó la composición nutricional de cinco unidades para conocer el perfil nutri-

minutes and they were placed in several beaker of 5 L with enough deionized water (25°C) until the total of alimentary bolus (12 hours), doing without O<sub>2</sub> bubble. They were sacrificed through thermic treatment (0°C) during 18 hours; the next day they were placed in plastic trays and exposed to sun for its pre dried during 8 hours. After, they were placed in an oven (YRH 02-3, Kaltein) with forced aeration to 60°C by 12 hours and consequently grinded in a pitones mill type Crown (04/249, mark Royal Triumph).

### **Experimental units and treatments**

65 bottles (capacity 50 mL) of amber color were used for each treatment (C<sub>1</sub>: conservation at environmental temperature, C<sub>2</sub>: conservation in refrigeration (5°C), C<sub>3</sub>: conservation at environmental temperature at vacuum and C<sub>4</sub>: conservation with preservative with nipagin and sodium aerosol (Protokimia Co., Medellín, Antioquia, Colombia). In each unit, 20 g of dehydrated flour were placed for after being hermetically closed in a manual way through an adjustable closer (Crimper, USA).

Each bottle formed a replicate. At the beginning of the essay, the nutritional composition of five units was analyzed to know the nutritive profile of flour. After that, each two months, to analyze five bottles of each treatment.

### **Conservation strategy**

Bottles were stored in the "J.W. Torrealba" laboratory. Mean temperature in the lab is of 25.1 ±1.6°C with relative moisture of 68%.

tivo de la harina. Para posteriormente, cada dos meses, analizar cinco frascos de cada tratamiento.

### **Estrategia de conservación**

Los frascos se almacenaron en el Laboratorio "J.W. Torrealba". La temperatura promedio en el Laboratorio es de  $25,1 \pm 1,6^{\circ}\text{C}$  con humedad relativa de 68%. Los frascos conservados a temperatura ambiente, al vacío y con preservante se colocaron en anaqueles diseñados para tal fin. Las unidades conservadas en refrigeración fueron colocadas en una nevera de laboratorio (Lab-Line, Modelo 3212-5) con temperatura prefijada de  $5,0^{\circ}\text{C}$  con fluctuación máxima de  $\pm 0,2$  grados durante todo el periodo experimental, siendo retirados solamente los frascos correspondientes para realizar los análisis de calidad cada dos meses, realizando las determinaciones correspondientes en un plazo menor de doce horas.

Para la preparación de la solución conservante, utilizada en la confección del tratamiento 4, se pesaron 20 mg de nipasol y 180 mg de nipagín en forma de sal sódica y se disolvieron en 100 mL de agua destilada. Inicialmente a proporciones de 20 g de harina se le adicionó 10 mL de la solución para posteriormente secar las muestras a  $60^{\circ}\text{C}$  durante 48 horas en estufa y envasarlas en los frascos respectivos antes de comenzar el experimento.

### **Determinaciones analíticas**

A la harina de cada frasco por triplicado se le determinó el contenido de proteína bruta (PB), proteína verdadera (PV), proteína soluble (PS), grasas totales (GrT), energía bruta (EB) utilizando bomba calorimétrica (Static Jacket) y ácido benzoico como

Bottles stored at environmental temperature, at vacuum and with preserving were placed in shelf designed for that. Frozen units were placed in a lab refrigerator (Lab-Line, Model 3212-5) with a pre fixed temperature of  $5.0^{\circ}\text{C}$  with a maximum fluctuation of  $\pm 0.2$  degrees during all the experimental period, being only removed those bottles need to accomplish the quality analysis each two months, by making the corresponding determinations in a term inferior to 12 hours.

For preparing the preservative solution used in the elaboration of treatment 4, 20 mg of nipasol and 180 mg of nipagín as sodium salt were weighed and they were dissolved in 100 mL of distilled water. Initially, to proportions of 20 g of flour, 10 mL of the solution were added for consequently to dry samples to  $60^{\circ}\text{C}$  during 48 hours in oven and bottled in its respective bottles before starting the experiment.

### **Analytical determinations**

To the flour of each bottle by triplicate, the net protein (PB) content was determined to, true protein (TP), soluble protein (SP), total fats (TF), gross energy (GE) by using a calorimetric pump (Static Jacket) and benzoic acid like internal pattern, minerals (Ca, P, Mg, K, Fe, Cu, Mn, Zn) and ash (A) according to the rules described by the AOAC (1990). The proportion of saturated fatty acids (SFA), mono-insaturated (IA) and poly-insaturated (PA) were quantified by gases chromatography to mass spectrometry and previous derivatization with diazometane from technique described by Vielma-Rondón *et al.*, 2003.



patrón interno, minerales (Ca, P, Mg, K, Fe, Cu, Mn, Zn) y ceniza (Cz) según las normas descritas por la AOAC (1990). La proporción de ácidos grasos saturados (AGS), mono-insaturados (AGI) y poli-insaturados (AGP) se cuantificaron mediante cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masa y previa derivatización con diazometano a partir de la técnica descrita por Vielma-Rondón *et al.* (2003b).

### **Estimación del valor nutritivo**

La digestibilidad *in vitro* de la materia seca (DIVMS) y de la PB (DIVPB) se determinó mediante el método de pepsina-pancreatina empleando un tamaño de partícula de 1 mm de acuerdo a lo recomendado por Dierick *et al.* (1985).

La degradabilidad ruminal *in situ* de la materia seca (DgMS) y PB (DgPB) a las 48 h se estimó mediante el procedimiento de las bolsas de nailon en rumen (Mehrez y Orskov, 1977), empleando dos bolsas (tamaño de poro: 50 micra) por tratamiento y tres repeticiones en el tiempo. Aproximadamente 2g de cada harina fueron incubados en el rumen de tres ovinos mestizos West African (39,4±2,48 kg de peso vivo) previamente sometidos a un régimen constante de alimentación, basado en heno *ad libitum* (*Cynodon* spp.), concentrado comercial (80 g.animal.día<sup>-1</sup> PB: 24,5%; FDN: 45,6%) y agua a voluntad.

### **Diseño experimental y tratamientos**

Para el montaje del experimento se utilizó un diseño totalmente aleatorizado (donde las estrategias de conservación constituyeron los tratamientos), con mediciones repetidas en

### **Estimation of nutritive value**

*In vitro* digestibility of dry matter (IVDDM) and NP (IVDNP) was determined according to the method of pepsin-pancreatine, by using a particle size of mm according to recommended by Dierick *et al.* (1985).

The *in situ* rumen degradability of dry matter (DMDg) and NP (NPDg) at 48 h was estimated by the nylon bags procedure n rumen (23), by using two different bags (pore size: 50 micron) by treatment and three replicates on time. Approximately 2g of each flour were incubated in rumen of three West African cross-breed sheep (39.4±2.48 kg of live weight) previously submit to a constant feeding regime, based on *ad libitum* hay (*Cynodon* spp.), commercial concentrate (80 g.animal.day<sup>-1</sup> NP: 24.5%; NDF: 45.6%) and water at pleasure.

### **Experimental design and treatments**

For the experiment set-up a totally at random design (in where the conservation strategies constituted treatments), with repeated measurements on time (Initial, 2 months, 4 months, 6 months).

### **Statistical analysis of results**

For data processing the statistical program SPSS version 10.0 (1998) was used. For means comparison the Tukey test was used for P<0.05.

## **Results and discussion**

In table 1 the protein profile and the GE of *Eisenia* spp. *in situ* are shown according to the storage

el tiempo (Inicial, 2 meses, 4 meses, 6 meses).

### **Análisis estadístico de los resultados**

Para el procesamiento de los datos se utilizó el paquete estadístico SPSS versión 10.0 (Visauta, 1998). Para la comparación de las medias se utilizó la prueba de Tukey para  $P < 0,05$ .

## **Resultados y discusión**

En el cuadro 1 se muestra el perfil proteico y la EB de la harina de *Eisenia* spp. según la estrategia de almacenamiento utilizada. No se encontró efecto significativo ( $P > 0,05$ ) de los tratamientos en los contenidos de PB, PV, PS y la EB en ninguna de las tres mediciones. Los valores de la fracción nitrogenada presentaron pocas fluctuaciones ( $PB_{T_0}$ :  $57,16 \pm 1,21\%$  vs.  $PB_{T_3}$ :  $57,14 \pm 1,32\%$ ;  $PV_{T_0}$ :  $90,46 \pm 3,34\%$  PB vs.  $PV_{T_3}$ :  $89,80 \pm 2,43\%$  PB;  $PS_{T_0}$ :  $5,17 \pm 0,21\%$  vs.  $PS_{T_3}$ :  $6,63 \pm 0,32\%$ ) desde el momento en el cual comenzó el experimento hasta los 6 meses de evaluación.

El elevado contenido de nitrógeno de este alimento; la sobresaliente proporción de proteína verdadera y la baja solubilidad de ésta en el medio de enzimas digestivas, describe las excelentes características nutricionales que presenta para ser utilizada intensivamente como suplemento proteico en la alimentación de animales monogástricos y pequeños rumiantes; aspecto señalado en investigaciones realizadas en Venezuela (Vielma-Rondón *et al.*, 2003a) y otros países donde se utiliza la harina de lombríz como

strategy used. Significant effect ( $P > 0.05$ ) of treatments in NP, TP, SP and the GE contents in any of three measurements was not found. Nitrogen fraction values showed little fluctuations  $NP_{T_0}$ :  $57.16 \pm 1.21\%$  vs.  $NP_{T_3}$ :  $57.14 \pm 1.32\%$ ;  $TP_{T_0}$ :  $90.46 \pm 3.34\%$  NP vs.  $TP_{T_3}$ :  $89.80 \pm 2.43\%$  NP;  $SP_{T_0}$ :  $5.17 \pm 0.21\%$  vs.  $SP_{T_3}$ :  $6.63 \pm 0.32\%$ ) from the moment in which the experiment began until 6 months of evaluation.

The high content of nitrogen of this food, the marked proportion of true protein and its low solubility in the medium of digestive enzymes, describes the excellent nutritional characteristics that shows to be intensively used like protein supply in the nutrition of monogastric and little ruminants; an aspect detached in researches carried out in Venezuela (Vielma-Rondón *et al.*, 2003a) and other countries in where the earthworm flour is used like an important essential nutrients source (Flores and Alvira, 1987).

On the other hand, a significant effect was observed in several components of the lipidic fraction as a function of treatments (table 2). The SFA content did not showed appreciable variations ( $P > 0.05$ ). Nevertheless, levels of TF, IFA and PFA substantially decreased from two storage months when flour was preserved at environmental temperature without additives, at vacuum and with the inclusion of nipagín and nipasol. These results exhibit that lipids present in flour are degraded at environmental temperature in a short time, perhaps



**Cuadro 1. Efecto del tipo de conservación en la fracción proteica y la EB de la harina de *Eisenia* spp.****Table 1. Effect of conservation type on proteic fraction and the GE of *Eisenia* spp meal.**

Variable	Tratamiento	Tiempo				Media
		T <sub>0</sub>	T <sub>1</sub>	T <sub>2</sub>	T <sub>3</sub>	
PB(%)	C <sub>1</sub>	57,16	57,37	56,95	56,53	56,95
	C <sub>2</sub>		57,27	57,30	57,31	57,29
	C <sub>3</sub>		57,07	57,32	57,90	57,43
	C <sub>4</sub>		57,00	56,97	56,81	56,93
	Media		57,18	57,14	57,14	57,15
	EE±			2,43	2,64	1,87
PV(%PB)	C <sub>1</sub>	90,46	89,38	89,30	89,76	89,48
	C <sub>2</sub>		88,73	88,43	88,98	88,71
	C <sub>3</sub>		90,00	90,82	90,03	90,28
	C <sub>4</sub>		90,11	90,84	90,43	90,46
	Media		89,56	89,85	89,80	89,73
	EE±			3,45	2,54	2,76
PS(%)	C <sub>1</sub>	5,17	5,43	6,32	6,76	6,17
	C <sub>2</sub>		5,86	6,24	6,36	6,15
	C <sub>3</sub>		5,49	6,16	6,54	6,06
	C <sub>4</sub>		5,21	6,11	6,84	6,05
	Media		5,50	6,21	6,63	6,11
	EE±			1,02	1,21	1,32
EB(kJ/g MS)	C <sub>1</sub>	19,21	19,25	19,22	19,24	19,24
	C <sub>2</sub>		19,16	19,23	19,20	19,20
	C <sub>3</sub>		19,22	19,21	19,29	19,24
	C <sub>4</sub>		19,08	19,06	19,06	19,07
	Media		19,18	19,18	19,20	19,19
	EE±			1,88	1,48	1,70

C<sub>1</sub>: a temperatura ambiente sin aditivos, C<sub>2</sub>: en refrigeración (5°C), C<sub>3</sub>: a temperatura ambiente al vacío y C<sub>4</sub>: a temperatura ambiente con preservativo (metil y etil parabeno) T<sub>0</sub>: inicio, T<sub>1</sub>: 2 meses, T<sub>2</sub>: 4 meses, T<sub>3</sub>: 6 meses

una importante fuente de nutrimentos esenciales (Flores y Alvira, 1987).

Por otra parte, se observó un efecto significativo en algunos componentes de la fracción lipídica en función de los tratamientos (cuadro 2).

by the spontaneous oxidation of double links and the transformation to oxygenated molecules of higher molecular weight, which have been reported in several sources with pronounced lipidic profile, when they

**Cuadro 2. Efecto del tipo de conservación en la fracción de ácidos grasos de la harina de *Eisenia* spp.**

**Table 2. Effect of conservation type in fatty acids fraction of *Eisenia* spp meal.**

Variable (%)	Tratamiento	Tiempo				Media
		T <sub>0</sub>	T <sub>1</sub>	T <sub>2</sub>	T <sub>3</sub>	
GrT	C <sub>1</sub>	5,68	5,45b	5,09b	4,87b	5,14
	C <sub>2</sub>		5,75a	5,43a	5,12a	5,43
	C <sub>3</sub>		5,48b	5,09b	4,97b	5,29
	C <sub>4</sub>		5,48b	5,08b	4,90b	5,15
	Media		5,54	5,17	4,96	5,23
	EE±			0,26*	0,28*	0,25*
AGS	C <sub>1</sub>	3,28	3,25	3,22	3,15	3,21
	C <sub>2</sub>		3,19	3,16	3,09	3,15
	C <sub>3</sub>		3,15	3,15	3,18	3,16
	C <sub>4</sub>		3,26	3,18	3,12	3,19
	Media		3,21	3,18	3,14	3,18
	EE±		0,22	0,24	0,21	
AGI	C <sub>1</sub>	1,74	1,47b	1,32b	0,98b	1,26
	C <sub>2</sub>		1,62a	1,56a	1,20a	1,46
	C <sub>3</sub>		1,48b	1,24b	1,08b	1,27
	C <sub>4</sub>		1,49a	1,27b	1,00b	1,25
	Media		1,52	1,35	1,07	1,31
	EE±		0,18*	0,12*	0,15*	
AGP	C <sub>1</sub>	1,63	1,33b	1,18b	0,83b	1,11
	C <sub>2</sub>		1,56a	1,23a	1,13a	1,31
	C <sub>3</sub>		1,31b	1,15b	0,84b	1,10
	C <sub>4</sub>		1,43b	1,02b	1,00b	1,15
	Media		1,41	1,15	0,95	1,17
	EE±		0,12*	0,11*	0,23*	

Medias con letras desiguales presentan diferencias estadísticas a P<0,05

C<sub>1</sub>: a temperatura ambiente sin aditivos, C<sub>2</sub>: en refrigeración (5°C), C<sub>3</sub>: a temperatura ambiente al vacío y C<sub>4</sub>: a temperatura ambiente con preservativo (metil y etil parabeno) T<sub>0</sub>: inicio, T<sub>1</sub>: 2 meses, T<sub>2</sub>: 4 meses, T<sub>3</sub>: 6 meses

El contenido de AGS no presentó variaciones apreciables (P>0,05). Sin embargo, los niveles de GrT, AGI y AGP decrecieron cuantiosamente a

are studied in different conditions (Gervaso, 1998; Gervaso, 2001; Gervaso, 2000; Gervaso, 2005).

In relation to the dynamics on

partir de los dos meses de almacenamiento cuando la harina fue conservada a temperatura ambiente sin aditivos, al vacío y con la inclusión de nipagín y nipasol. Estos resultados ponen de manifiesto que los lípidos presentes en la harina se degradan a temperatura ambiente en poco tiempo, quizás por la oxidación espontánea de los dobles enlaces y la transformación a moléculas oxigenadas de mayor peso molecular, lo cual ha sido informado en varias fuentes con perfil lipídico pronunciado, cuando son estudiadas en diferentes condiciones (Gervaso, 1998; Gervaso, 2001; Gervaso, 2000; Gervaso, 2005).

Con relación a la dinámica en el tiempo, también se observó disminución numérica de las concentraciones de todos los compuestos integrantes de la fracción ( $\text{GrT}_{\text{T}_0}$ :  $5,68 \pm 0,98\%$  vs.  $\text{GrT}_{\text{T}_3}$ :  $5,02 \pm 0,32\%$ ;  $\text{AGS}_{\text{T}_0}$ :  $3,28 \pm 0,42\%$  vs.  $\text{AGS}_{\text{T}_3}$ :  $3,14 \pm 0,02\%$ ;  $\text{AGI}_{\text{T}_0}$ :  $1,74 \pm 0,26\%$  vs.  $\text{AGI}_{\text{T}_3}$ :  $1,09 \pm 0,08\%$ ;  $\text{AGP}_{\text{T}_0}$ :  $1,63 \pm 0,20\%$  vs.  $\text{AGP}_{\text{T}_3}$ :  $1,03 \pm 0,10\%$ ).

Al respecto, en los alimentos de origen animal y vegetal las entidades químicas causantes de la peroxidación lipídica son denominadas especies de oxígeno reactivas (ROS), y dentro de ese grupo se encuentran el anión superóxido ( $\text{O}_2^-$ ), el hidroxilo ( $\text{OH}^\cdot$ ) y el peróxido de hidrógeno ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ), que es una especie reactiva del  $\text{O}_2$  que también puede ser precursora de los radicales libres si las concentraciones en el tejido celular son elevadas (Frei, 1999; Membrillo *et al.*, 2003).

Los radicales libres se pueden formar a partir de moléculas estables mediante ruptura homolítica y reacciones de transferencia de electrones.

time, also a numeric decrease of concentrations of every compounds of fraction ( $\text{TF}_{\text{T}_0}$ :  $5.68 \pm 0.98\%$  vs.  $\text{TF}_{\text{T}_3}$ :  $5.02 \pm 0.32\%$ ;  $\text{SFA}_{\text{T}_0}$ :  $3.28 \pm 0.42\%$  vs.  $\text{SFA}_{\text{T}_3}$ :  $3.14 \pm 0.02\%$ ;  $\text{IFA}_{\text{T}_0}$ :  $1.74 \pm 0.26\%$  vs.  $\text{IFA}_{\text{T}_3}$ :  $1.09 \pm 0.08\%$ ;  $\text{PFA}_{\text{T}_0}$ :  $1.63 \pm 0.20\%$  vs.  $\text{PFA}_{\text{T}_3}$ :  $1.03 \pm 0.10\%$ ).

On this respect, in the foods of animal and vegetal origin the chemical entities causing of lipidic peroxidation are called reactive oxygen species (ROS), and inside of this group are found the super oxide anion ( $\text{O}_2^-$ ), the hydroxile ( $\text{OH}^\cdot$ ) and the hydrogen peroxide ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ), that is one reactive specie of  $\text{O}_2$  that also can be precursor of free radicals if concentrations in cellular tissue are high (Frei, 1999; Membrillo *et al.*, 2003).

Free radicals can be formed from stable molecules by a homolytic breaking and reactions of electron transfer. These reactions are given by the absorption of ionizing energy, like ionizing radiations, ultraviolet, visible and thermic; the reactions redox of non enzymatic electron transfer in case of catalyzed reactions catalyzed by transition metals and those catalyzed by enzymes like superoxide dismutase (SOD) that catalyzes the formation of  $\text{H}_2\text{O}_2$  (Hicks, 2001).

During the cellular metabolism in the mitochondria's, the citosol and in the microsomal fractions of *Eisenia* spp., the ROS are inactivated by the antioxidant mechanisms, which have been deeply studied in this annelid (Lawson and Bellingham, 2003; Saint-Denis *et al.*, 1998). Nevertheless, when earthworm died, these mechanisms stops and the *postmortem* mitochondrial breath

Estas reacciones se dan por la absorción de energía ionizante, como radiaciones ionizantes, ultravioleta, visible y térmica; las reacciones redox de transferencia no enzimática de electrones en el caso de reacciones catalizadas por metales de transición y las reacciones catalizadas por enzimas como la superóxido dismutasa (SOD) que cataliza la formación del  $H_2O_2$  (Hicks, 2001).

Durante el metabolismo celular en las mitocondrias, el citosol y en las fracciones microsomales de *Eisenia* spp., las ROS son inactivadas por los mecanismos antioxidantes, los cuales han sido estudiados con profundidad en este anélido (Lawson y Bellingham, 2003; Saint-Denis *et al.*, 1998). No obstante, cuando las lombrices mueren, estos mecanismos cesan y la respiración mitocondrial *posmortem* continúa ocurriendo, generando así más ROS por mecanismos no fisiológicos que desencadenan las reacciones de oxidación de los ácidos grasos insaturados de las membranas celulares, los nucleótidos en el ADN, las proteínas y los carbohidratos (Beckman y Ames, 1998).

Considerando que en investigaciones recientes se ha demostrado que los anélidos después de su muerte natural o inducida producen instantáneamente considerables niveles de  $H_2O_2$  y radicales (Gnoulá *et al.*, 2007) que, aunque la primera no posee electrones libres, es una molécula muy reactiva y puede ser precursora de grupos  $OH\cdot$  en presencia de metales de transición generando reacciones en cadena (Wang *et al.*, 2001); esta molécula podría ser una de las causantes de la oxidación de los ácidos grasos

continues happening, creating more ROS by no physiological mechanisms that unchains the oxidations reactions of insaturated fatty acids of cellular membranes, the nucleotides in the ADN, proteins and carbohydrates (Beckman and Ames, 1998).

By considering that in recent researches it has been shown that annelids after its natural or induced dead instantly produce considerable levels of  $H_2O_2$  and radical (Gnoulá *et al.*, 2007) that even though the first one do not have free electron, is a very reactive molecule and be precursor of  $OH\cdot$  groups in presence of transition metals by causing in chain reactions (Wang *et al.*, 2001); this molecule could be one of those causing of fatty acids oxidation and other nutriments in flour of *Eisenia* spp.

On the other hand, it has been demonstrate that the synthesis of nitric oxide (NO), that is a radical free of nitrogen in food with a high protein concentration like in case of *Eisenia* spp flour, could induce the membrane lipids peroxidation (Herrero *et al.*, 1996), in this process additionally is involved the superoxide anion ( $O_2^-$ ) which when interacts with the nitric oxide forms peroxynitrite, a precursor molecule of  $OH\cdot$  radicals that also is responsible of lypoperoxidation in preserved samples.

Taking into account this aspects, degradation of this fraction constitutes one of the medullar elements to be considered when this protein source be used, since it has been shown that lipids present in this flour are very important for animal and human nutrition (Vielma-Rondón *et al.*, 2003b).

y otros nutrimentos en la harina de *Eisenia* spp.

Por otro lado, se ha demostrado que la síntesis del óxido nítrico (NO), que es un radical libre del nitrógeno en alimentos con elevada concentración de proteínas, como en el caso de la harina de *Eisenia* spp., puede inducir la peroxidación de los lípidos de la membrana (Herrero *et al.*, 1996), en este proceso se involucra adicionalmente el anión superóxido ( $O_2^-$ ) que al interactuar con el óxido nítrico forma peroxinitrito, una molécula precursora de radicales OH $\cdot$  que también es responsable de la lipoperoxidación en muestras conservadas.

Considerando los aspectos señalados, la degradación de esta fracción constituye uno de los elementos medulares a considerar cuando se pretenda utilizar esta fuente de proteínas, ya que se ha demostrado que los lípidos presentes en esta harina son muy importantes para la alimentación animal y humana (Vielma-Rondón *et al.*, 2003b).

Adicionalmente, según los resultados, la conservación de la harina de la Lombríz Roja a temperatura ambiente, aplicando vacío al frasco de almacenamiento o adicionándole nipagin y nipasol es poco provechosa, si se pretende alimentar animales monogástricos; ya que parece ser que el proceso de descomposición en la harina estudiada también es espontáneo. Sin embargo, la conservación a baja temperatura parece inhibir la degradación, al menos, hasta los seis meses. Este particular también ha sido señalado por Membrillo *et al.* (2003) quienes informan que la pro-

Additionally, according to the results, conservation of Red Earthworm flour at environmental temperature, by applying at vacuum to the bottle storage or by adding nipagin and nipasol it is little profitable, if the nutrition of monogastric animals is desired because seems to be that the decomposition process in flour studied is also spontaneous. However, conservation to low temperature apparently inhibits degradation, at least until six months. This particular also have been reported by Membrillo *et al.* (2003) who says that production of free radical, and so, the beginning of peroxidation reactions in chain is delayed when substrates are to low storage temperatures.

In the conditions of this research, the additives used were not effective for avoiding the lipids loss, perhaps because the chemical reactions that occurs independently of presence of these compounds. In this sense, to keep the chemical characteristics, of nutritive value, sensorial properties and texture of aliments and pharmaceuticals, traditionally two types of compounds have been used (stabilizers-preservers and antioxidants).

Within of more used stabilizers are the nipagin and the nipasol alone or combined, because they avoid decomposition from the microbial activity, regulates pH and avoid the molecular reorganizing (Aromas del Perú, 2008). On the other hand, to counteract the negative effect of free radicals, not only for the oxidation that causes to the primary metabolites of cells but also by the

ducción de radicales libres, y por ende el comienzo de las reacciones de peroxidación en cadena, se retarda cuando los sustratos se encuentran a bajas temperaturas de almacenamiento.

En las condiciones descritas en esta investigación, los aditivos utilizados no fueron efectivos para evitar la pérdida de lípidos, quizás debido a que las reacciones químicas que tienen lugar ocurren independientemente de la presencia de estos compuestos. En este sentido, para mantener las características químicas, de valor nutritivo, propiedades organolépticas y la textura de los alimentos y fármacos, se han utilizado tradicionalmente dos tipos de compuestos (estabilizantes-preservantes y antioxidantes).

Dentro de los estabilizantes más utilizados se encuentran el nipagin y el nipasol en forma independiente o combinada, ya que evitan la descomposición a partir de la actividad microbiana, regulan el pH y evitan los reordenamientos moleculares (Aromas del Perú, 2008). Por otra parte, para contrarrestar el efecto negativo de los radicales libres, no solo por la oxidación que provocan a los metabolitos primarios de las células; sino también por el efecto negativo que causan en la conservación; en las últimas décadas se han empleado sustancias químicas que pretenden anular o minimizar la oxidación de los sustratos (Hicks, 2001).

Se ha experimentado con enzimas exógenas tales como la SOD, la catalasa y el citocromo C líquido (Maxwell y Stojanov, 2006), el glutatión (Fouchécourt *et al.*, 1999), la

negative effect that causes in conservation; in the last decades, chemical substances have been used to cancel or minimize oxidation of substrates (Hicks, 2001).

Exogenous enzymes has been used as experiment, such as SOD, catalase and the liquid C cytochrome (Maxwell and Stojanov, 1996), glutathione (Fouchécourt *et al.*, 1999), melatonin (Reiter, 2000), serum albumin (Bourdon *et al.*, 1999), vitamins E and C and  $\alpha$ -carotenes (Tribble, 1999), butyl hydroxytoluene (Sommer *et al.*, 2000), butyl hydroxyanisole, n-propyl gallate, and ferroxamine mesilate (Upreti *et al.*, 1997) and flavonoids (García, 2003); since through different mechanisms, some of them are capable of avoiding the radical formation and other ones catch these charged molecules because they shows double links that makes easier the electronic neutralization.

Nevertheless, in production systems of great quantities of earthworm flour with commercial purposes, the usage of most of these additives is few practical because the high cost, so, another alternatives to avoid damage of fatty acids present in flour has to be studied.

The macro and microelements and ash did not show substantial changes between treatments during the evaluated period (tables 3 and 4). However, bioavailability studies has to be carried out to assert that there were no changes during storage and these do not causes problems in the minerals absorption in the digestive system.

Values obtained in profile of



melatonina (Reiter, 2000), la albúmina sérica (Bourdon *et al.*, 1999), las vitaminas E y C y los  $\alpha$ -carotenos (Tribble, 1999), el butil hidroxitolueno (Sommer *et al.*, 2000), el butil hidroaxianisol, el n-propil galato, y el feroxamina mesilato (Upreti *et al.*, 1997) y los flavonoides (García, 2003); ya que mediante diferentes mecanismos algunos son capaces de evitar la formación de radicales y otros atrapan estas moléculas cargadas, porque presentan dobles enlaces conjugados que facilitan la neutralización electrónica.

No obstante, en sistemas de producción de grandes cantidades de harina de lombriz con fines comerciales, la utilización de la mayoría de estos aditivos resulta poco práctica por el elevado costo. Por lo que se deben estudiar otras alternativas para evitar el deterioro de los ácidos grasos presentes en la harina.

Tanto los macro como los microelementos y la ceniza no presentaron variaciones sustanciales entre los tratamientos durante el periodo evaluado (cuadros 3 y 4). No obstante, se deben realizar estudios de biodisponibilidad para aseverar que no ocurrieron transformaciones durante el almacenamiento y que estas no causan problemas en la absorción de minerales en el sistema digestivo.

Los valores obtenidos en el perfil de minerales coinciden con los informados por Vielma-Rondón *et al.* (2003b) en muestra de harinas de *Eisenia* spp. analizadas mediante metodologías similares. No obstante, la cantidad de la carne depende de los procesos de bio-absorción que tiene lugar en el tracto digestivo del anélido y de la características químicas de

minerals agree with those informed by Vielma-Rondón *et al.* (2003b) in samples of *Eisenia* spp. flours analyzed by similar methodologies. Nevertheless, the meat quantity depends on bio-absorption processes that have place on digestive tract of annelid and the chemical characteristics of substrates from which takes food (Satchell, 1983).

From the comparative point of view this supplement is low in Calcium, Iron and Manganese, medium in Phosphorus, Potassium and Copper, and high in Zinc and ashes, if values that some tropical forages shows are considered because they serves like supplement in the nutrition of monogastric animals (Savón *et al.*, 2005).

In relation to variables of nutritive value the *in vitro* digestibility and the *in situ* rumen degradability of flours did not show appreciable variations respect to the conservation strategies during measurements accomplished (table 5). The IVDDM values oscillated between 60.54 and 65.54%, the IVDCP varied between 68.98-73.27%; whereas the DgDM and the DgCP showed a narrow variation margin (66.93-69.38% and 46.27-49.83%, respectively).

Percentages of digestibility and degradability of this food are very high, if they are compared with those of another no conventional sources that are used in the monogastric and ruminants nutrition (Godoy and Chicco, 1991; Savón *et al.*, 2005). In this sense, degradation values are superior to those informed for meat and bones flours and slaughter wastes.

**Cuadro 3. Efecto del tipo de conservación en el contenido de macroelementos de la harina de *Eisenia* spp.****Table 3. Effect of conservation type on macro elements content of *Eisenia* spp. meal.**

Variable	Tratamiento	Tiempo				Media	
		T <sub>0</sub>	T <sub>1</sub>	T <sub>2</sub>	T <sub>3</sub>		
P	C <sub>1</sub>	0,81	0,78	0,80	0,80	0,79	
	C <sub>2</sub>		0,79	0,76	0,79	0,78	
	C <sub>3</sub>		0,80	0,80	0,81	0,80	
	C <sub>4</sub>		0,78	0,82	0,78	0,79	
	Media			0,79	0,80	0,80	0,79
	EE±			0,07	0,07	0,06	
K	C <sub>1</sub>	0,70	0,69	0,70	0,70	0,70	
	C <sub>2</sub>		0,67	0,65	0,67	0,66	
	C <sub>3</sub>		0,68	0,69	0,68	0,68	
	C <sub>4</sub>		0,69	0,69	0,69	0,69	
	Media			0,68	0,68	0,69	0,68
	EE±			0,06	0,08	0,09	
Ca	C <sub>1</sub>	0,37	0,36	0,35	0,36	0,36	
	C <sub>2</sub>		0,35	0,35	0,35	0,35	
	C <sub>3</sub>		0,37	0,38	0,37	0,37	
	C <sub>4</sub>		0,36	0,37	0,36	0,36	
	Media			0,36	0,36	0,36	0,36
	EE±			0,06	0,05	0,03	
Mg	C <sub>1</sub>	0,23	0,22	0,23	0,22	0,22	
	C <sub>2</sub>		0,21	0,22	0,21	0,21	
	C <sub>3</sub>		0,20	0,20	0,20	0,20	
	C <sub>4</sub>		0,22	0,21	0,22	0,22	
	Media			0,21	0,22	0,21	0,21
	EE±			0,05	0,05	0,03	

C<sub>1</sub>: a temperatura ambiente sin aditivos, C<sub>2</sub>: en refrigeración (5°C), C<sub>3</sub>: a temperatura ambiente al vacío y C<sub>4</sub>: a temperatura ambiente con preservativo (metil y etil parabeno) T<sub>0</sub>: inicio, T<sub>1</sub>: 2 meses, T<sub>2</sub>: 4 meses, T<sub>3</sub>: 6 meses

los sustratos de los cuales se alimentan (Satchell, 1983).

Desde el punto de vista comparativo este suplemento es bajo en Calcio, Hierro y Manganeso, medio en Fósforo, Potasio y Cobre, y elevado en

However, it is possible that this food shows fraction of overpass protein; since in some results obtained with flours of animal origin, degradability have been attributed to high solubility of these materials in the rumen liquor

**Cuadro 4. Efecto del tipo de conservación en el contenido de microelementos de la harina de *Eisenia* spp.****Table 4. Effect of conservation type on microelements content of *Eisenia* spp meal.**

Variable	Tratamiento	Tiempo				Media
		T <sub>0</sub>	T <sub>1</sub>	T <sub>2</sub>	T <sub>3</sub>	
Fe(ppm)	C <sub>1</sub>	16,03	15,93	15,62	16,02	15,86
	C <sub>2</sub>		16,00	15,05	16,00	15,68
	C <sub>3</sub>		14,54	16,00	15,94	15,49
	C <sub>4</sub>		15,82	15,94	16,01	15,92
	Media		15,57	15,65	15,99	15,74
	EE±			2,03	1,90	1,76
Cu(ppm)	C <sub>1</sub>	19,00	18,78	19,00	18,83	18,87
	C <sub>2</sub>		19,00	19,00	18,98	18,99
	C <sub>3</sub>		17,79	18,73	18,87	18,46
	C <sub>4</sub>		18,99	18,87	18,86	18,91
	Media		18,64	18,90	18,89	18,81
	EE±			2,37	1,04	1,01
Mn(ppm)	C <sub>1</sub>	43,54	43,82	42,72	43,29	43,28
	C <sub>2</sub>		43,28	43,21	43,52	43,34
	C <sub>3</sub>		42,89	43,31	43,11	43,10
	C <sub>4</sub>		43,62	42,83	43,29	43,25
	Media		43,40	43,02	43,30	43,24
	EE±			2,97	2,54	2,38
Zn(ppm)	C <sub>1</sub>	117,50	116,73	116,72	115,85	116,43
	C <sub>2</sub>		114,38	115,70	116,38	115,49
	C <sub>3</sub>		114,82	116,82	117,74	116,46
	C <sub>4</sub>		115,40	117,38	115,82	116,20
	Media		115,33	116,66	116,45	116,15
	EE±			5,83	6,39	5,94
Ceniza(%)	C <sub>1</sub>	13,05	13,03	13,00	12,98	13,00
	C <sub>2</sub>		13,09	12,99	13,00	13,03
	C <sub>3</sub>		12,98	13,06	13,05	13,03
	C <sub>4</sub>		13,00	13,04	13,04	13,03
	Media		13,03	13,02	13,02	13,02
	EE±			1,05	1,04	1,09

C<sub>1</sub>: a temperatura ambiente sin aditivos, C<sub>2</sub>: en refrigeración (5°C), C<sub>3</sub>: a temperatura ambiente al vacío y C<sub>4</sub>: a temperatura ambiente con preservativo (metil y etil parabeno) T<sub>0</sub>: inicio, T<sub>1</sub>: 2 meses, T<sub>2</sub>: 4 meses, T<sub>3</sub>: 6 meses

Zinc y cenizas, si se consideran los valores que presentan algunos de los forrajes tropicales que sirven como suplemento en la alimentación de animales monogástricos (Savón *et al.*, 2005).

Con relación a los variables de valor nutritivo la digestibilidad *in vitro* y la degradabilidad ruminal *in situ* de las harinas no presentaron variaciones apreciables respecto a las estrategias de conservación durante las mediciones realizadas (cuadro 5). Los valores de DIVMS oscilaron entre 60,54 y 65,54%, la DIVPC varió entre 68,98-73,27%; mientras que la DgMS y la DgPC presentaron un estrecho margen de variación (66,93-69,38% y 46,27-49,83%, respectivamente).

Los porcentajes de digestibilidad y degradabilidad de este alimento son muy elevados, si se comparan con los de otras fuentes no convencionales que se emplean en la alimentación de monogástricos y rumiantes (Godoy y Chicco, 1991; Savón *et al.*, 2005). En este sentido, los valores de degradación son superiores a los informados para las harinas de carnes y de huesos y los desechos de mataderos. Sin embargo, es posible que este alimento presente fracción de proteína sobrepasante; ya que en algunos resultados obtenidos con harinas de origen animal, la degradabilidad se ha atribuido a la elevada solubilidad de estos materiales en el licor ruminal y que no necesariamente, la desaparición de estas fracciones ocurra mediante el ataque de los microorganismos. Este aspecto podría conferirle a la harina de *Eisenia* spp. mayor significación nutricional, com-

and not necessarily, the disappearance of these fractions occurs through the attack of microorganisms. This aspect could give to the *Eisenia* spp. flour a higher nutritional significance in comparison to the traditional foods.

Independently of type of used storage, even though the DM like the CP of flours showed high digestibility and rumen degradability, if forages of high tropical distribution that function as supplementary material shows lignin and secondary metabolites that elevates its costs in the most of cases (García, 2003).

## Conclusions

Considering the results obtained in chemical composition and nutritive value, the *Eisenia* spp. flour shows a high potential like protein source for animal nutrition. This feed source shows good stability at medium term basically in compounds of proteic fraction, *in vitro* digestibility and rumen degradability. However, through storage at environmental temperature, at vacuum and with the addition of methyl and ethyl paraben, the profile of insaturated fatty acids is affected from 2 months.

*End of english version*

---

parado con otros alimentos tradicionales.

Independientemente del tipo de almacenamiento utilizado, tanto la MS como la PC de las harinas presentaron digestibilidad y degradabilidad ruminal elevada, si se

**Cuadro 5. Efecto del tipo de conservación en la digestibilidad *in vitro* y la degradabilidad ruminal de la harina de *Eisenia* spp.****Table 5. Effect of conservation type on *in vitro* digestibility and rumen degradability of *Eisenia* spp mail.**

Variable	Tratamiento	Tiempo				Media
		T <sub>0</sub>	T <sub>1</sub>	T <sub>2</sub>	T <sub>3</sub>	
DIVMS	C <sub>1</sub>	64,69	60,54	60,54	60,54	60,54
	C <sub>2</sub>		62,76	62,76	62,76	62,76
	C <sub>3</sub>		64,86	63,86	63,86	64,19
	C <sub>4</sub>		63,54	65,54	63,54	64,21
	Media		62,93	63,18	62,68	62,93
	EE±			6,98	5,62	4,90
DIVPB	C <sub>1</sub>	70,41	70,54	70,82	70,39	70,58
	C <sub>2</sub>		71,83	73,27	69,96	71,69
	C <sub>3</sub>		70,85	69,29	68,98	69,71
	C <sub>4</sub>		70,28	70,83	70,65	70,59
	Media		70,88	71,05	70,00	70,64
	EE±			5,87	5,87	5,98
DgMS	C <sub>1</sub>	68,59	67,86	68,54	67,98	68,13
	C <sub>2</sub>		69,38	68,73	68,84	68,98
	C <sub>3</sub>		66,93	70,08	68,66	68,56
	C <sub>4</sub>		68,83	68,93	68,42	68,73
	Media		68,25	69,07	68,48	68,60
	EE±			7,43	6,87	6,46
DgPB	C <sub>1</sub>	49,65	48,84	49,42	48,75	49,00
	C <sub>2</sub>		46,94	46,27	48,38	47,20
	C <sub>3</sub>		49,32	48,96	47,97	48,75
	C <sub>4</sub>		48,31	49,83	49,03	49,06
	Media		48,35	48,62	48,53	48,50
	EE±			4,28	4,82	4,21

C<sub>1</sub>: a temperatura ambiente sin aditivos, C<sub>2</sub>: en refrigeración (5°C), C<sub>3</sub>: a temperatura ambiente al vacío y C<sub>4</sub>: a temperatura ambiente con preservativo (metil y etil parabenos) T<sub>0</sub>: inicio, T<sub>1</sub>: 2 meses, T<sub>2</sub>: 4 meses, T<sub>3</sub>: 6 meses

considera que los forrajes de mayor distribución tropical que sirven como material suplementario presentan ligninas y metabolitos secundarios que encarecen su aprovechamiento, en muchos casos (García, 2003).

## Conclusiones

Considerando los resultados obtenidos en la composición química y el valor nutritivo, la harina de *Eisenia* spp. presenta un elevado potencial

como fuente de proteína para la alimentación animal. Esta fuente alimenticia presenta buena estabilidad a mediano plazo fundamentalmente en los componentes de la fracción proteica, la digestibilidad *in vitro* y la degradabilidad ruminal. Sin embargo, mediante el almacenamiento a temperatura ambiente, al vacío y con la adición de metil y etil parabeno se afecta el perfil de ácidos grasos insaturados a partir de los 2 meses.

## Literatura citada

- AOAC. 1990. Official Methods of Analysis. 15 ed. Association of Official Agricultural Chemistry. Washington, D.C., USA. 500 p.
- Aromas del Perú. 2008. Aromas del Perú. Líneas de Productos. En línea. Disponible en: <http://www.aromasdelperu.com/home1.htm> (Consulta: 08/03/2008)
- Beckman, K.B. y B.N. Ames. 1998. The free radical theory of aging matures. *Physiol. Rev.* 78:547-581.
- Bourdon E., N. Loreau y D. Blache. 1999. Glucose and free radicals impair the antioxidant properties of serum albumin. *Faseb J.* 13:233-244.
- Dierick N., I. Vervaeke, J. Decuypere y H.K. Henderickx. 1985. Protein digestion in pigs measured *in vivo* and *in vitro*. In: Just. A., Jorgensen, H.; Fernández, J.A. (Ed). *Digestive Physiology in the Pig.* 580 Beret Stat Husdyrbrugsfors Kobenhavn. Germany, p. 329-332.
- Ferruzzi, C. 1987. Manual de lombricultura. Editorial Mundi Prensa-Castelo 37. Madrid, España. 138p.
- Flores, M.T. y P. Alvira. 1987. Composición químico-bromatológica y proporción de aminoácidos de la harina de la lombriz de tierra (*E. foetida* Sav. y *L. rubellus* Hoff.). *An. Edaf. Agrobiol.* 7(8):785-798.
- Fouchécourt, S., F. Dacheux y J.L. Dacheux. 1999. Glutathione-independent prostaglandin D2 synthase in ram and stallion epididymal fluids: origin and regulation. *Biol. Reprod.* 60:558-566.
- Frei, B. 1999. Molecular and biological mechanisms of antioxidant action. *Faseb J.* 13:963-964.
- García, D.E. 2003. Evaluación de los principales factores que influyen en la composición fitoquímica de *Morus alba* (Linn.). Tesis de Maestría en Pastos y Forrajes, EEPF "Indio Hatuey", Matanzas, Cuba. 97 pp.
- García, D.E., H.B. Wencomo, M.E. González, M.G. Medina, L.J. Cova y I. Spengler. 2008. Evaluación de diecinueve ecotipos de *Leucaena leucocephala* (Lam.) de Wit basada en la calidad nutritiva del forraje. *Zootecnia Trop.* 26(1):1-10.
- Godoy, S. y C Chicco. 1991. Degradación ruminal *in situ* de diferentes fuentes de proteína. *Zootecnia Trop.* 9(1):3-24.
- Gnoula, C., I. Guissou, J. Dubois y P. Duez. 2007. 5(6)-Carboxyfluorescein diacetate as an indicador of *Caenorhabditis elegans* viability for the development of an *in vitro* anthelmintic drug assay. *Talanta* 71(5):1886-1892.
- Herrero, M.B., M.S. Pérez, J.M. Viggiano, J.M. Polar y M.F. de Gimeno. 1996. Localization by indirect immunofluorescence of nitric oxide synthase in mouse and human spermatozoa. *Reprod. Fertil. Dev.* 8:931-934.
- Hicks J.J. 2001. *Bioquímica*. McGraw-Hill. México. 900 pp.
- Gervaso, E.A. 2000. Kinetics of lipid peroxidation in compartmentalized systems initiated by a water-soluble free radical source. *Chemistry and physics of lipids*, 140 (1):49-56.



- Gervaso, E.A. 2005. Cinética y mecanismo de la lipoperoxidación en sistemas micro heterogéneos. En: Quinta Conferencia Latinoamericana de físico-química orgánica. Viña del mar, Chile.
- Gervaso, E.A. 1998. Luminiscence kinetics in the oxidation of lipids and proteins. *Revista de farmacia e bioquímica da universidade de Sao Paulo*, 34(1):41-41.
- Gervaso, E.A. 2001. Oxidación de ácidos grasos insaturados en vesículas de dipalmitoilfosfatidilcolina (DPPC). Resúmenes del 4º Congreso Internacional de Química. La Habana, Cuba.
- Lawson, P.B. y W.A. Bellingham. 2003. Fluoride inhibition of Superoxide Dismutase (SOD) from the Earthworm *Eisenia fetida*. *Fluoride* 36(3):143-151
- Maxwell, W.M. y T. Stojanov. 1996. Liquid storage of ram semen in the absence or presence of some antioxidants. *Reprod. Fertil. Dev.* 8:1013-1020.
- Medina, A y J. Araque. 1999. Obtención, composición química, funcional, perfiles electroforéticos y calidad bacteriológica de la carne de lombriz (*Eisenia foetida*). *Rev. de la Fac. de Farm.* 37:31-38.
- Mehrez, A.Z. y E.R. Orskov. 1977. A study of the artificial fibre bag technique for determining the digestibility of feeds in the rumen. *J. Agric. Sci.* 88:645-649.
- Membrillo, A., A. Córdova, J.J. Hicks, I.M. Olivares, V.M. Martínez y J.J. Valencia. 2003. Peroxidación lipídica y antioxidantes en la preservación de semen: Una revisión. *Interciencia* 28(12):699-704.
- Reiter R.J. 2000. Melatonin: Lowering the high price of free radicals. *News Physiol. Sci.* 15:246-250.
- Saint-Denis, M., F. Labrot, J.F. Narbonne y D. Ribera. 1998. Glutathione, glutathione-related enzymes, and catalase activities in the Earthworm *Eisenia fetida andrei*. *Archives Environmental Contamination and Toxicology* 35(4):602-614.
- Satchell, J.E. 1983. Earthworm ecology from Darwin to vermiculture. Satchell, J.E. (Ed). Chapman & Hall LTD. 485 p.
- Savón L., O. Gutiérrez, F. Ojeda e I. Scull. 2005. Harinas de follajes tropicales: una alternativa potencial para la alimentación de especies monogástricos. *Pastos y Forrajes* 28(1):69-79.
- Sommer D., K.L. Fakata, S.A. Swanson y P.M. Stemmer. 2000. Modulation of the phosphatase activity of calcineurin by oxidants and antioxidants *in vitro*. *Eur. J. Biochem.* 267:2312-2322.
- Tacón, A.G., A. Stafford y C.A. Edward. 1983. A preliminary investigation of the nutritive value of three terrestrial lumbricid worms for rainbow trout. *Aquacult.* 35:187-199.
- Tribble D.L. 1999. Antioxidant consumption and risk of coronary heart disease: emphasis on vitamin C, vitamin E, and beta-carotene: A statement for healthcare professionals. *Am. Heart Assoc. Circ.* 99:591-595.
- Upreti G.C., K. Jensen, J.E. Oliver, D.M. Duganzich, R. Munday y J.F. Smith. 1997. Motility of ram spermatozoa during storage in a chemically-defined diluent containing antioxidants. *Anim. Reprod. Sci.* 48:269-278.
- Velásquez L., C. Herrera e I. Ibáñez. 1986. Harina de lombriz I Parte: Obtención composición química, valor nutricional y calidad bacteriológica. *Alimentos.* 11(1):15-21.
- Vielma-Rondón R., P. Carrera, C. Rondón y A. Medina. 2001. Contenido de minerales y elementos traza en harina de lombriz californiana *Eisenia foetida*. LI Convención. *Annual de ASOVAC*. Universidad del Táchira Venezuela. San Cristóbal 18 p.p.

- Vielma-Rondón R., J.F. Ovalles-Durán, A. León-Leal y A. Medina. 2003a. Valor nutritivo de la harina de lombriz (*Eisenia foetida*) como fuente de aminoácidos y su estimación cuantitativa mediante cromatografía en fase reversa (HPLC) y derivatización pre-columna con o-ftalaldehído (OPA). *Ars. Pharma.* 44(1): 43-58.
- Vielma-Rondón R., A. Usubillaga y A. Medina. 2003b. Estudio preliminar de los niveles de ácidos grasos de la harina de lombriz (*Eisenia foetida*) mediante cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas. *Rev. de la Fac. de Farm.* 45(2): 39-44.
- Visauta, B. 1998. Análisis Estadístico con SPSS para Windows. En: *Estadística Multivariante.* Visauta, B. (Ed). Mc-Graw-Hill-Interamericana de España. Madrid, España. 200 p.p.
- Wang X.L., D.L. Rainwater, J.F. Vandeberg, B.D. Mitchell y M.C. Mahaney. 2001. Genetic contributions to plasma total antioxidant activity. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 21: 1190-1195.