

UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA

E.A.P DE MEDICINA VETERINARIA

Comparacion de dos técnicas para determinar la Digestibilidad Proteica de Insumos y Alimentos Comerciales para Caninos

TESIS: para optar el Título Profesional de MEDICO VETERINARIO

AUTOR:

Malca Osores Sandra Veronica

LIMA – PERÚ 2004

A mis padres por su gran apoyo y paciencia durante toda la carrera. Mil Gracias.

A los Doctores:

Orlando Lucas por su gran apoyo y tiempo dedicado en la dirección de esta Tesis. Muchas Gracias.

Felipe San Martín por su valiosa ayuda, sus consejos y tiempo dedicado a este trabajo. Muchas Gracias.

Teresa Arbaiza y Femando Carcelén por su asesoría y consejos. Muchas Gracias.

A mis amigos:

*Jhon, Iván, Fernando, Erich, Carmen, Walter, Daniel F, Cristián,
por estar siempre dispuestos a colaborar conmigo.*

*Un agradecimiento muy especial a Daniel Ticona por su
invalorable ayuda.*

A RINTI S.A.

Por su aporte con parte de/ material utilizado en este trabajo.

A todos aquellos que colaboraron conmigo de alguna u otra forma, mi más eterno agradecimiento.

RESUMEN

El objetivo de; estudio fue comparar el método de digestibilidad proteica aparente *in vivo* en ratas con el método alternativo *in vitro* con Pepsina (EC: 3.4.23.1); así como determinar el grado de correlación entre ambos métodos. Para ello, se determinó la digestibilidad proteica de tres insumos utilizados en la elaboración de alimentos comerciales para perros: Torta de soya (TS), harina de carne (HC) y harina de pollo (HP); tres alimentos comerciales para cachorros (C1, C2, y C3); tres alimentos comerciales para perro adulto (A1, A2 y A3); y un control que fue caseinato de sodio. Para la prueba *in vivo* se utilizaron 60 ratas albinas (*Rattus norvegicus*) machos de 23 días de edad, y para la prueba *in vitro* se utilizó el método de la pepsina estandarizado en el Laboratorio de Bioquímica, Nutrición y Alimentación de la Facultad de Medicina Veterinaria de la UNMSM. Cada experiencia *in vivo* e *in vitro* se realizó por sextuplicado y los resultados se expresaron como promedios \pm desviación estándar. Los datos *in vivo* e *in vitro* fueron sometidos al análisis de varianza y los promedios se compararon con la prueba de Tukey ($p < 0.05$); además se empleó el análisis de correlación y regresión. Se obtuvo como resultado un coeficiente de correlación de 0.94 ($p < 0.05$); siendo la digestibilidad proteica *in vitro* siempre mayor que la digestibilidad aparente *in vivo*. Además, la fórmula de regresión fue la siguiente: $Y, \text{ in vivo} = 11.037 + 0.804 (X, \text{ in vitro})$. Se concluye que existe una alta correlación entre los métodos empleados para medir la digestibilidad proteica de insumos y alimentos comerciales para perros.

Palabras clave: digestibilidad proteica

SUMMARY

The aim of this study was to compare the *in vivo* apparent protein digestibility method in rats and the *in vitro* pepsin (EC: 3.4.23.1) digestibility method; as well as to determine the correlation between these two methods. Three protein sources used in commercial dog foods were assessed: Soybean meal (HS), meat meal (HC) and chicken meal (HP); in addition, three commercial adult dog foods (A1, A2 and A3) as well as three commercial puppy foods (C1, C2 and C3) were evaluated and sodium caseinate was used as a control group. For the *in vivo* assay, 60 twenty-three-day-old albino laboratory rats (*Rattus norvegicus*) were used; the *in vitro* method tested was the standard method used at the Biochemistry, Nutrition and Animal Feed Laboratory, in the Faculty of Veterinary Medicine, UNIVISM. Each *in vivo* and *in vitro* assay was performed six times and the results were reported as means \pm Standard Deviation. The ANOVA test was used and significance difference between means was identified using the Tukey Test ($p < 0.05$); simple correlation and regression analyses were also used. As a result, the correlation coefficient between the *in vivo* and the *in vitro* methods was 0.94 ($p < 0.05$); where the *in vitro* digestibility was statistically higher than the *in vivo* digestibility. The regression equation was $Y, \text{ in vivo} = 11.037 + 0.804 (X, \text{ in vitro})$. It is concluded that there is a high correlation between both protein digestibility methods when assessing protein sources and commercial dog foods.

Key words: digestibility, protein, commercial dog food, soy bean meal, chicken meal, meat meal

INTRODUCCIÓN

La alimentación canina ha ido evolucionando con el paso de los años desde una dieta básicamente casera hasta el uso cada vez mayor de alimentos balanceados. Sin embargo, para elegir un alimento comercial hay que tener en cuenta aspectos importantes como son su contenido de nutrientes, así como la digestibilidad y disponibilidad de los mismos. En los alimentos comerciales, los nutrientes pueden suministrarse a partir de un gran número de ingredientes, que pueden variar en su forma y calidad; es así que en el caso de las proteínas, estas pueden ser de origen vegetal, animal o ambos; lo que determina una gran variabilidad en su calidad nutricional (Case *et al*, 1997).

La digestibilidad es uno de los indicadores más utilizados para determinar la calidad de las proteínas debido a que no todas son digeridas, absorbidas y utilizadas en la misma medida. Las diferencias de digestibilidad pueden deberse a factores inherentes a la naturaleza de las proteínas alimentarias, a la presencia de componentes no proteicos con influencia en la digestión (fibra de la dieta, taninos, fitatos), a la presencia de factores antifisiológicos o a las condiciones de elaboración, que pueden interferir en los procesos enzimáticos de liberación de los aminoácidos. La digestibilidad proteica se puede determinar por varios métodos entre ellos la digestibilidad *in vivo* ya sea aparente o verdadera, directa o indirecta, y la digestibilidad *in vitro* utilizando enzimas (Citado por: FAO/OMS, 1992).

En la actualidad, la regulación de la Association of American Feed Control Officials (AAFCO) no permite que los fabricantes de alimentos para animales incluyan datos de digestibilidad de carácter cuantitativo o comparativo en sus etiquetas. Esta información puede obtenerse solamente a través de la comunicación directa con el fabricante del alimento. Los propietarios de animales deben seleccionar alimentos que tengan una digestibilidad igual o superior al

80% en materia seca; y deben rechazar cualquier alimento cuya digestibilidad sea inferior al 75%. Sin embargo, la gran variabilidad de la calidad de la proteína presente en estos alimentos comerciales hace que esta se presente como un factor crítico, es por ello la importancia de determinar su digestibilidad (Case *et al.*, 1997).

La digestibilidad *in vivo* en ratas es un método ampliamente utilizado para determinar la calidad de los alimentos de uso humano. Teniendo en cuenta que la rata posee una fisiología digestiva similar a la de los caninos, se aplica también en alimentos para perros. Sin embargo, la determinación de la digestibilidad en ratas presenta algunos inconvenientes como son: el tiempo de su ejecución (9 días), el alto costo, la mayor cantidad de alimento empleado y el manejo de animales.

Por las razones expuestas en el párrafo anterior se ensayó un método alternativo *in vitro* que puede ser correlacionado con la técnica *in vivo* en ratas y que sea de fácil aplicación.

REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

METABOLISMO PROTEICO EN PERROS

La mayoría de las proteínas ingeridas en la dieta son susceptibles de ser digeridas y posteriormente absorbidas. En el estómago por medio de la pepsina, comienza la digestión de las proteínas, aunque la porción de hidrólisis es variable y no es tan importante como la que se produce en el duodeno y demás partes del intestino delgado. Las proteasas secretadas por el páncreas desempeñan un papel importante en la digestión de las proteínas. Las proteasas más importantes son la tripsina, la quimiotripsina y la carboxipeptidasa. El jugo pancreático contiene estas enzimas en forma inactiva, como proenzimas. La enzima enterocinasa, secretada por la mucosa duodenal y yeyunal, convierte el tripsinógeno en tripsina. La tripsina actúa autocatalíticamente activando el tripsinógeno, y además convierte el quimiotripsinógeno y el procarboxipepsinógeno en las enzimas activas (Eckert,1991; García Sacristán, 1995).

Las proteasas pancreáticas convierten rápidamente las proteínas de la dieta en pequeños péptidos. El 50% aproximadamente de las proteínas son digeridas y absorbidas en el duodeno. El borde en cepillo del intestino delgado también presenta peptidasas (García Sacristán,1995).

Los principales productos de la digestión de las proteínas por las proteasas pancreáticas y las proteasas del borde en cepillo son pequeños péptidos de 2 a 6 aminoácidos y un pequeño porcentaje de aminoácidos libres que son absorbidos en el duodeno. Se estima que en el intestino grueso pasa alrededor del 15 al 20 % de la proteína que no es absorbida en el intestino delgado; en el intestino grueso no se absorben aminoácidos sino grupos amino que posteriormente son metabolizados en urea en el hígado, que luego es excretada en la orina (García Sacristán,1995)

REQUERIMIENTOS PROTEICOS EN PERROS

Se han efectuado numerosos estudios sobre las necesidades mínimas de proteínas para el perro adulto. Sin embargo, las diferencias en las fuentes proteicas, densidades energéticas y equilibrio de aminoácidos de las dietas experimentales utilizadas han suscitado una gran confusión respecto a estas necesidades. En general, cuando se suministran dietas que contienen fuentes proteicas de alta calidad, los perros adultos requieren que un porcentaje, que oscila entre el 4 y el 7% de sus calorías de energía metabolizable (EM), se suministre como proteínas. Sin embargo, cuando en la dieta se incluyen fuentes proteicas de baja calidad, la demanda aumenta hasta superar el 20% de las calorías de EM. Esta cifra es equivalente a un 21 % de proteínas en un alimento desecado típico que contenga 3.5kcal de EM/gr.

Las necesidades proteicas de los cachorros en crecimiento es significativamente superior a la de los perros adultos. Los estudios iniciales que utilizaron fuentes proteicas mixtas establecieron unas necesidades mínimas de proteínas entre el 17 y el 22% de EM para los perros en crecimiento. Estos experimentos usaron la máxima ganancia de peso como indicador de las necesidades mínimas de proteínas. Un estudio más reciente, que también ha utilizado el aumento de peso como criterio, estableció unas necesidades inferiores; sin embargo, la fuente proteica utilizada en este experimento era de alta calidad comparada con la utilizada en los estudios iniciales. Los datos de balance de nitrógeno de este estudio proporcionaron una estimación de las necesidades de proteínas del 20% o más de la EM. (Case *et al.*, 1997).

ALIMENTOS COMERCIALES PARA PERROS

Durante muchos años ha resultado exitoso y económico cubrir los requerimientos nutricionales de las mascotas con alimentos preparados comercialmente. Dichos alimentos representan más del 90% de las calorías consumidas por las mascotas en Norte América, Japón, Norte de Europa, Australia y Nueva Zelanda. En otros lugares de Europa, América Latina y costas del Pacífico, esta clase de alimentos representa el 35 al 50 % de las

calorías consumidas por los perros y gatos. La popularidad de los alimentos para mascotas de origen comercial y su repercusión potencial sobre el bienestar de los animales hacen comprensibles que sus características, beneficios y aplicaciones sean altamente relevantes para los veterinarios y el equipo encargado del cuidado de la salud de los animales de compañía. Además, los alimentos formulados específicamente para la prevención y tratamiento de enfermedades son auxiliares importantes en medicina y cirugía en la práctica veterinaria diaria (Hand *et al.*, 2000).

Formas de alimentos para mascotas

Los alimentos para mascotas preparados comercialmente se encuentran disponibles en tres formas básicas: secos, semi-húmedos y húmedos. Como se deduce de los nombres de categoría, el contenido de agua difiere enormemente entre las tres formas. Otras diferencias incluyen el perfil típico de los nutrientes y las ventajas y desventajas de cada forma. La calidad del alimento para mascotas es independiente de la forma; pueden encontrarse alimentos de alta calidad en las tres categorías. Las preferencias del consumidor también varían. Los norteamericanos prefieren los alimentos secos mientras que los europeos consumen mayor porcentaje de alimentos húmedos (por lo general enlatados). La tendencia global es hacia el uso de alimentos secos (Hand *et al.*, 2000).

- Alimentos húmedos

El contenido de humedad de estos alimentos es del 60 a más del 87%. La porción de la materia seca del alimento contiene todos los nutrientes no acuosos: proteínas, grasa, hidratos de carbono, vitaminas y minerales. Las gomas y los agentes gelificantes a menudo son utilizados para solidificar las tortas y el agua embebida en los alimentos con alta humedad para evitar el agua “libre” en el envase. Muchos de los alimentos húmedos para mascotas contienen altos niveles de carne y sus subproductos. Estos alimentos están caracterizados también por niveles más altos en proteínas, fósforo, sodio y grasa que las

formas secas o semi-húmedas. Una de las razones principales por las que se acepta esta forma húmeda es su alta palatabilidad (Hand *et al.*, 2000 ; Edney ,1989).

Los alimentos húmedos presentan una baja densidad calórica variando de 0.7 a 1.4 kcal (2.93 a 5.86 kJ) de energía metabolizable/g de alimento (Hand *et al.*, 2000).

-Alimentos secos

Los alimentos secos para mascotas contienen 3 a 11% de agua. Tienen una densidad calórica de 2.7 a más de 7.1 kcal (11.3 a 29.7 kJ) de energía metabolizable/g de alimento. En promedio los alimentos secos para mascotas tienen menor contenido de proteínas, grasas y la mayoría de minerales, expresados como base de la materia seca, que los alimentos húmedos.

Las partículas de alimento seco por lo común se forman mediante extrusión. Este proceso implica la mezcla conjunta de todos los ingredientes hasta formar una masa, que posteriormente se cuece en un extrusor y pasa a través de un proceso de coloración bajo condiciones de presión y temperatura elevadas. Este procedimiento da lugar a una rápida cocción del almidón contenido en el alimento, lo que aumenta la digestibilidad y el sabor del producto. Tras el enfriamiento, generalmente, se recubren las porciones del producto con grasa u otro reforzante del sabor, y el secado con aire caliente reduce el contenido húmedo total hasta un 10% o menos (Hand *et al.*, 2000).

- Alimentos semi-húmedos

Los alimentos semi-húmedos tienen un contenido intermedio de agua (25 a 35%). En la fabricación de alimentos semi-húmedos se utilizan humectantes y se acidifican con ácidos orgánicos simples para controlar la actividad del agua e inhibir el desarrollo de hongos. Con frecuencia contienen harinas de carne y saborizantes artificiales, siendo altamente palatables para las mascotas (Hand *et al.*, 2000).

Marcas populares, de calidad y genéricas

- Marcas populares

Las marcas comerciales de alimentos para animales de compañía pueden clasificarse en tres tipos: populares, de calidad y genéricas. Las marcas populares nacionales e importadas, se comercializan a nivel nacional o regional y se venden en tiendas de abarrotes y supermercados. Los fabricantes de estos productos gastan mucho en publicidad, basando sus estrategias en el sabor y atractivo del alimento.

En EEUU, la mayoría de marcas populares utilizan formulaciones variables con ingredientes que varían entre los diferentes lotes según la disponibilidad del ingrediente y su costo. La fórmula variable, no modifica el panel de análisis garantizado, pero sí puede modificar la fuente y la calidad de los ingredientes que origina un producto de calidad y digestibilidad variable, que puede causar trastornos gastrointestinales cuando se cambia de paquete. En general las marcas populares tienen una digestibilidad inferior que la mayoría de marcas de calidad pero la calidad y digestibilidad de sus ingredientes son superiores a las marcas genéricas o privadas (Case *et al.*, 1997).

- Marcas de calidad

Estos productos proporcionan una alimentación óptima durante diferentes etapas de la vida. Los fabricantes de estos productos aportan material educativo sobre el tipo de alimentación más adecuada, dirigido a propietarios y profesionales. Generalmente se comercializan en veterinarias y tiendas especializadas. Se fabrican con fórmulas fijas, que garantizan que sus ingredientes no varían por su disponibilidad o precio en el mercado. Las declaraciones de la etiqueta son justificadas a través de ensayos de la AAFCO. Su precio es mayor porque sus ingredientes son superiores y por su nivel de comprobación. Son muy digestibles y densos en nutrientes por lo que son necesarias raciones menores, por lo que el costo por ración a menudo es comparable al de muchas marcas populares (Case *et al.*, 1997).

- Marcas genéricas y privadas

Estos productos no llevan la etiqueta de una marca. El objetivo principal de los fabricantes es producir un alimento a bajo costo, utilizando ingredientes baratos y de baja calidad, con muy pocos ensayos de alimentación. Utilizan normalmente métodos de cálculo y no ensayos de alimentación de la AAFCO. Algunos de estos alimentos no aportan una alimentación completa e incluso no llevan declaraciones en la etiqueta. Su digestibilidad y disponibilidad de nutrientes es menor que los alimentos populares o de calidad. Los ingredientes de baja calidad y el escaso contenido en grasas los hace insípidos y son los más baratos y de peor calidad.

Los alimentos con etiqueta privada llevan el nombre de la cadena de alimentación o de la tienda en donde se venden. Al igual que los productos genéricos, se producen a bajo costo. La única diferencia es que los alimentos con etiqueta privada se fabrican (ó simplemente se empaquetan y etiquetan) bajo un contrato con la tienda que aporta el nombre (Case *et al.*, 1997).

Ingredientes comunes presentes en los alimentos para mascotas

Cada ingrediente de un alimento comercial se incluye con un fin específico. Cuando se examina la lista de ingredientes de un alimento, el nutriente o nutrientes aportados por cada ingrediente debe ser una preocupación fundamental. Tanto la cantidad como la calidad del ingrediente en el producto determinan la eficiencia nutritiva del ingrediente. Es importante tener en cuenta que los alimentos para animales están compuestos de varios ingredientes y no solamente de los tres o cuatro primeros de la lista. Al evaluar el producto, deben considerarse los nutrientes aportados por todos los ingredientes. En el Cuadro 1. se observan los ingredientes frecuentemente usados en alimentos para animales de compañía y los nutrientes más importantes que aportan (Case *et al.*, 1997).

Cuadro 1. Ingredientes comunes según fracción alimenticia empleados en la elaboración de concentrados comerciales para perros. Case *et al.* (1997)

PROTEÍNAS	HIDRATOS DE CARBONO	LÍPIDOS	FIBRA DIETÉTICA
Harina de pollo	Harina de alfalfa	Grasa animal	Pulpa de manzana
Harina de hígado de pollo	Cebada	Grasa de pollo	Cebada
Harina de subproductos de pollo	Desecado de cervecería de arroz	Aceite de Maíz	Pulpa de Remolacha de
Subproductos de pollo	Arroz oscuro	Semilla de linaza	Celulosa
Harina de subproductos de ave	Semillas de Lino	Grasa de ave	Pulpa de cítricos
Huevo deshidratado	Harina de semillas de Lino	Aceite de cártamo	Salvado de avena
Harina de pescado	Maíz triturado	Aceite de soja	Cáscara de maní
Harina de cordero	Arroz triturado	Aceite de girasol	Cebada perlada
Subproductos cárnicos	Trigo triturado	Aceite vegetal	Salvado de arroz
Harina de carne	Harina de avena		Cáscara de soja
Harina de carne y huesos	Cebada perlada		Soja triturada
Harina de soya	Harina de arroz		Pulpa de tomate
Levadura de cerveza deshidratada	Trigo		
Harina de gluten de maíz	Harina de trigo		

Principales insumos proteicos

Las proteínas de un alimento para perros pueden ser de origen animal, vegetal o ambos. Por lo general las proteínas de alta calidad de origen animal proporcionan a los animales de compañía un equilibrio superior de aminoácidos que las proteínas de origen vegetal; sin embargo, la calidad de las proteínas de origen animal puede variar entre excelente a pobre, y esta característica se debe a su digestibilidad y disponibilidad de sus aminoácidos, los cuales se determinan a partir de ensayos de alimentación. Esta información no puede obtenerse de los datos presentes en la etiqueta del producto. Por otra parte, la fuente proteica de los cereales no resulta tan equilibrada ni disponible como las proteínas de alta calidad de origen animal, pero son superiores a las proteínas animales de baja calidad (Case *et al.*, 1997).

- Harina de Carne

Es el producto obtenido de los tejidos mamíferos, con exclusión de sangre, pelo, pezuñas, cuernos, cortes ocultos, estiércol, contenido estomacal y ruminal excepto en cantidades inevitables aún con prácticas de procesamiento adecuadas. No debe contener materiales extraños añadidos que no se incluyen en esta definición. El nivel de calcio no debe exceder más de 2.2 veces al nivel verdadero de fósforo (AAFCO,1998) (citado por: Hand *et al.*,2000). Esta harina varía según la calidad de los residuos (músculos, conjuntivo, cartílagos, sangre mezclada y huesos). Según la NRC (1985) la harina de carne debe contener 54.8% de proteínas.

La proteína de la harina de carne es de elevado valor biológico, abundante en aminoácidos como la lisina. Por el contrario, a veces su contenido en metionina y triptófano son inferiores a los de la harina de pescado. En cuanto al triptófano en estas harinas, su concentración es menor que en algunas proteínas de semillas de oleaginosas (lino, algodón, maní

harina de carne es buena fuente de vitamina B₁₂, niacina, colina. No contiene vitamina A, B₁ y es insignificante en vitamina B₂. Es rica en calcio y fósforo. Su digestibilidad no debe resultar inferior al 82% (Dale,1997 ^(a) ; Hand *et al.*, 2000).

- Harina de Pollo

La harina o subproducto de pollo está compuesta de fracciones del ave no consumibles por el hombre (plumas, buche, intestinos y hueso). Estos desechos incluyendo la cabeza y patas representan el 34.3 % del peso del pollo (El Boushy, 1986).

Las plumas son ricas en proteínas (87%), pero por las escleroproteínas son pobremente digeribles (Fataccioli, 1981). La baja digestibilidad de las plumas puede ser mejorada si son tratadas mediante métodos físicos o químicos, haciéndolas susceptibles a la hidrólisis enzimática. Al igual que la harina de carne, la harina de pollo tiene un contenido elevado de lisina y metionina, pero bajo en triptófano (Hand *et al.*, 2000).

- Torta de soya

Los derivados de la soya (harina de extracción y torta), actualmente se consideran la fuente más completa de proteínas vegetales tanto por su calidad de la fracción proteica, como por su palatabilidad para los animales. Los procesos de elaboración son cada día más sofisticados siendo ahora un ingrediente fundamental y casi irremplazable en la alimentación animal. Su porcentaje proteico va del 44 a 46 % (Piccioni, 1970).

La soya sin procesar contiene fitatos y varios inhibidores metabólicos que afectan la capacidad del animal para digerir y absorber los nutrientes. Estas sustancias inhibidoras se destruyen durante el proceso de calentamiento del alimento, pero los fitatos pueden interferir en la absorción de determinados minerales aún después del procesado. Al igual que la mayoría de las legumbres, la soya presenta varios hidratos de carbono complejos y azúcares simples que no pueden ser metabolizados por las enzimas del intestino delgado. Estos pasan intactos al intestino grueso, donde la fermentación bacteriana produce gases y flatulencia (Case *et al.*, 1997).

En la torta de soya la acción térmica aumenta el valor de la metionina por la destrucción de factores enzimáticos negativos (factores antitripsicos), permitiendo así una favorable distribución de las diversas fracciones proteicas. El contenido de lisina es elevado similar a la de una buena harina de carne, pescado o leche. El contenido de triptófano es más elevado que en la torta de maní, algodón, linaza, etc., pero inferior al de las harinas de origen animal.

La torta de soya es rica en fósforo y en compuestos fosforados, particularmente lecitina, la cuál es muy parecida a la lecitina del huevo y contribuye a que la torta de soya sea la de más alto valor biológico de la serie vegetal. Los principios tóxicos de la soya son termolábiles, existe un factor deprimente del crecimiento, un factor anticoagulante y una albúmina aglutinante de la sangre y otros más. Un excelente tostado se obtiene en autoclave a una temperatura de 100°C durante 30 min. (Piccioni, 1970).

Si la soya es subprocesada, quedan activos los inhibidores de tripsina y si hay un sobre calentamiento, el valor nutritivo de la soya se reduce porque la lisina es afectada (Dale, 1977 b).

VALOR PROTEICO DE LOS ALIMENTOS

El valor proteico de un alimento corresponde a su capacidad para satisfacer las necesidades de nitrógeno y aminoácidos y asegurar así un crecimiento y mantenimiento adecuados. Esto depende del contenido de proteína, del contenido de aminoácidos y la disponibilidad de los mismos.

Teniendo en cuenta que el valor nutritivo difiere para cada proteína, su valoración es muy útil y permitirá: Prever la cantidad de proteínas o de mezclas de proteínas alimenticias necesarias para satisfacer las necesidades de aminoácidos para el crecimiento y mantenimiento; clasificar las proteínas en función de su valor nutritivo potencial; e identificar las modificaciones nutricionales que las proteínas alimenticias puedan sufrir durante los tratamientos tecnológicos (Cheftel *et al.*, 1989).

Para determinar el valor nutritivo de las proteínas se utilizan métodos biológicos (*in vivo*) y químicos (*in vitro*) (Cuadro 2).

Cuadro 2. Métodos para evaluar la calidad de la proteína. Hand *et al.*,2000

MÉTODO	DESCRIPCIÓN
<i>in vivo</i>	
Valor biológico (VB)	Sobre la base del balance de nitrógeno cuando se consume una proteína de prueba $VB = \frac{N \text{ del alimento} - N \text{ fecal} + N \text{ urinario}}{N \text{ del alimento} - N \text{ fecal}} \times 100$
Índice de eficiencia de la proteína (IEP)	Sobre la base del aumento de peso en ratas en crecimiento alimentadas con una proteína de prueba comparando con el aumento de peso con un derivado de la caseína

$$\text{IEP} = \frac{\text{Aumento de peso (g)}}{\text{Ingesta de proteína (g)}}$$

Índice de proteína neta (IPN) Similar al IEP pero también con un alimento libre de proteína neta (IPN)

$$\text{IPN} = \frac{\text{Aumento de peso en el grupo de prueba} + \text{pérdida de peso en el grupo que recibe un alimento libre de proteína}}{\text{Ingesta de proteína}}$$

Utilización neta de la proteína (UNP) Similar al IPN excepto que se determina el N corporal total en lugar del aumento de peso.

$$\text{UNP} = \frac{\text{N corporal de los animales alimentados con la proteína de prueba} - \text{N corporal de los animales que reciben un alimento libre de proteína}}{\text{Ingesta de nitrógeno N}}$$

Valor relativo de proteína (VRP) de Se suministran cantidades con aumento gradual de las proteínas de prueba y de control y se mide el aumento de peso.

Valor nutritivo relativo (VNR)

$$\text{VRP ó VNR} = \frac{\text{pendiente de la curva de aumento de peso en animales alimentados con la proteína de prueba}}{\text{pendiente de la curva de aumento de peso en animales alimentados con la proteína control}}$$

Digestibilidad aparente (DA) $\text{DA} = \frac{\text{N ingerido} - \text{N en heces}}{\text{N ingerido}} \times 100$

Continúa

MÉTODO	DESCRIPCIÓN
<i>in vitro</i>	
Puntaje de aminoácidos (puntaje químico)	de Comparación del contenido de aminoácido limitante de la proteína Puntaje AA= $\frac{\text{mg de aminoácidos /g de la proteína de prueba}}{\text{mg de aminoácidos /g de la proteína de referencia}}$
Índice aminoácidos esenciales (IAAE)	de Proporción media de aminoácido de todos los aminoácidos esenciales sobre la base de sus proporciones individuales con las proporciones de aminoácido en la proteína de referencia

Contenido total de un aminoácido esencial (E/T) Proporción de aminoácidos esenciales que componen el total de la proteína

Digestibilidad *in vitro* % proteínas digeridas en relación al contenido proteico total de la muestra.

Digestibilidad de los alimentos

La digestibilidad es un criterio importante porque mide directamente la proporción de nutrientes del alimento que están disponibles para su absorción por el organismo. La digestibilidad verdadera y aparente solamente pueden determinarse a través de ensayos de alimentación controlados. Pueden obtenerse valores correspondientes a la digestibilidad de la materia seca del alimento, proteína cruda y extracto libre de nitrógeno (ELN) (Church y Pond, 1990).

Estudios realizados con marcas populares de alimento para perros mostraron que los coeficientes de digestibilidad promedio para la proteína cruda, fueron del 81% (Case *et al.*, 1997).

La legislación de la Association of American Feed Control Officials (AAFCO) no permite que los fabricantes de alimentos para animales incluyan declaraciones de digestibilidad de carácter cuantitativo o comparativo en sus etiquetas. Esta información puede obtenerse solamente a través de la verdadera administración del alimento. Los propietarios de animales deben seleccionar alimentos que tengan una digestibilidad de la materia seca igual o superior al 80% y deben rechazar cualquier alimento cuya digestibilidad sea inferior al 75% (Case *et al.*, 1997).

Métodos para determinar la digestibilidad de las proteínas

Si las proporciones de aminoácidos de una proteína constituyen probablemente el determinante más importante de su calidad, los factores que le siguen en importancia son la digestibilidad de la proteína y la biodisponibilidad de los aminoácidos que la constituyen. Ello se debe a que no todas las proteínas son digeridas, absorbidas y utilizadas en la misma medida. Las diferencias de digestibilidad entre las proteínas pueden deberse a diferencias inherentes a la naturaleza de las proteínas alimentarias (configuración de la proteína, unión de los aminoácidos); a la presencia de componentes no proteicos con influencia en la digestión (fibra de la dieta, taninos, fitatos); a la presencia de factores antifisiológicos o a las condiciones de elaboración, que pueden interferir en los procesos enzimáticos de liberación de los aminoácidos de las proteínas (FAO/OMS, 1992 ; FAO/OMS/UNU, 1985).

De poco sirve la información sobre el contenido de un alimento si se desconoce su digestibilidad. La digestibilidad también afecta el volumen y la forma de las heces, así como la frecuencia de las defecaciones. Aunque no es obligatorio que los fabricantes lleven a cabo ensayos de digestibilidad con sus productos, los fabricantes con reputación y que producen productos de alta calidad si los realizan. (Case *et al.*, 1997).

Existen dos procedimientos principales para determinar la digestibilidad, estos son: determinación de la digestibilidad *in vivo* y la determinación de la digestibilidad *in vitro*. En el primer procedimiento se utiliza directamente al animal, mientras que en el segundo se trata de reproducir en el laboratorio los procesos de digestión (Córdova, 1993).

- Digestibilidad de las proteínas *in vivo*

Este procedimiento ha sido usado tradicionalmente para determinar la digestibilidad. La cantidad media diaria de nitrógeno aparentemente absorbido por el animal, se calcula por diferencia entre la cantidad de nitrógeno del alimento consumido y la cantidad excretada en las heces. Esa cantidad, expresada como porcentaje de lo ingerido es el coeficiente de digestibilidad. Puesto que las heces no se componen únicamente de alimentos indigestibles sino que incluyen células descamadas y productos excretados al

tracto digestivo, la diferencia entre lo ingerido y lo excretado determinada de esta forma se denomina digestibilidad aparente (DA) (Edney,1989; Bondi,1988).

La digestibilidad aparente se calcula de la siguiente forma:

$$DA = \frac{(\text{nitrógeno ingerido} - \text{nitrógeno en heces}) \times 100}{\text{nitrógeno ingerido}}$$

Para hallar la digestibilidad real es preciso tener en cuenta la cantidad de nitrógeno fecal excretado cuando el animal consume una dieta sin proteína (nitrógeno metabólico) (FAO/OMS, 1992).

- Digestibilidad de las proteínas *in vitro*

Los estudios de digestibilidad son tan laboriosos de llevar a cabo que se han hecho numerosos intentos para reproducir en el laboratorio las reacciones que tienen lugar en el tracto digestivo del animal, con el objeto de poder determinar la digestibilidad de los alimentos. No es fácil reproducir, en su totalidad, la digestión de los animales monogástricos, pero la digestibilidad de las proteínas puede determinarse mediante las técnicas multienzimáticas y el ataque *in vitro* con pepsina y ácido clorhídrico (Mc Donald *et al.*, 1986).

?? Método de la pepsina y ácido clorhídrico

Este método se basa en reproducir la digestión proteica en el laboratorio, sometiendo a una muestra de alimento a la acción de pepsina y ácido clorhídrico. Como resultado de este ataque se obtiene un residuo indigestible al cual se le determina su contenido de nitrógeno, que multiplicado por 6.25 dará el contenido de proteína

indigestible, que se resta del contenido de proteína bruta de la muestra, previamente determinada, y se obtiene el porcentaje de proteína digestible del alimento (AOAC, 1990).

MATERIALES Y MÉTODOS

Localización y animales experimentales

El presente estudio se realizó en la Facultad de Medicina Veterinaria (FMV) de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Los análisis de los alimentos, las heces, la digestión *in vitro* y la prueba *in vivo* se realizaron en el Laboratorio de Bioquímica, Nutrición y Alimentación Animal.

Se utilizaron 60 ratas albinas (*Rattus norvegicus*) machos de 23 días de edad, provenientes del Bioterio de la Universidad Nacional Agraria La Molina. Se mantuvieron alojadas en jaulas metabólicas individuales a una temperatura de 18 -26°C y una humedad relativa de 40-70%. Se empleó pienso estándar de rata de laboratorio durante un periodo de aclimatación de 3 días.

Insumos

Los insumos proteicos utilizados fueron: torta de soya, harina de carne y harina de pollo que fueron obtenidos de una empresa nacional productora de alimentos comerciales para mascotas. Como grupo control se utilizó caseinato de Sodio.

Alimentos comerciales para perros

Se eligieron aleatoriamente tres marcas de alimento comercial para perros con dos variedades cada uno: cachorro y adulto; haciendo un total de seis muestras de alimento comercial evaluados. Estos alimentos fueron de origen nacional y extranjero.

Análisis para la determinación de la composición químico proximal

Se realizó el análisis químico proximal de los insumos y alimentos comerciales así como, de las dietas experimentales. Estos análisis se realizaron empleando las técnicas estandarizadas en el Laboratorio de Bioquímica, Nutrición y Alimentación Animal de la Facultad de Medicina Veterinaria de la UNMSM (Arbaiza,1997).

Determinación de la digestibilidad proteica aparente *in vivo* (Dig. *in vivo*)

- Formulación de las dietas experimentales

Se prepararon 10 dietas experimentales utilizando en su formulación insumo proteico o alimento comercial, y se les denominaron: Dieta torta de soya (TS), Dieta harina de carne (HC), Dieta harina de pollo (HP), Dieta alimento de cachorro marca comercial 1 (C1), Dieta alimento de cachorro marca comercial 2 (C2), Dieta alimento de cachorro marca comercial 3 (C3), Dieta alimento de perro adulto marca comercial 1 (A1), Dieta alimento de perro adulto marca comercial 2 (A2), Dieta alimento de perro adulto marca comercial 3 (A3), y Dieta caseinato de sodio (control)

El criterio de formulación de las dietas experimentales se basó en el método oficial de la AOAC (1990), en donde se especifica que las raciones deben ser estandarizadas a un 10 % de proteína para poder proceder a su análisis de Dig. *in vivo*. Para su elaboración, las dietas fueron molidas y tamizadas a través de una malla de 1mm. Además del insumo proteico o alimento comercial, las dietas contenían aceite de maíz, celulosa, almidón de maíz, mezcla de vitaminas y minerales. La composición final fue de: Proteínas 10%,

grasas 10 %, mezcla de vitaminas 2%, mezcla de minerales 3.5%, celulosa 5% y almidón de maíz hasta completar 100%.

La composición de las dietas se detalla en el Cuadro 3. A estas dietas se les realizó el análisis químico proximal respectivo.

Cuadro 3. Composición de las dietas utilizadas en la determinación de la digestibilidad proteica *in vivo* (g/100g)

	Dietas *									
	control	TS	HC	HP	C1	C2	C3	A1	A2	A3
Insumo/alimento comercial	11.7	22.2	19.4	16.5	32.8	38.4	48.4	38.4	46.8	48.4
Aceite de maíz	10.0	9.6	7.6	7.8	4.4	7.7	7.0	4.4	7.1	7.4
Mezcla de minerales	3.1	1.9	0.9	1.4	1.0	1.0	1.3	1.0	1.3	1.2
Mezcla de vitaminas	2.0	2.0	2.0	2.0	2.0	2.0	2.0	2.0	2.0	2.0
Celulosa	5.0	4.2	4.8	4.8	3.8	4.4	4.3	3.8	4.1	4.2
Almidón de maíz	68.2	60.0	65.2	67.5	50.3	46.4	46.6	50.3	38.8	36.9

*Control (caseinato de sodio),TS (torta de soya), HC (harina de carne) , HP (harina de pollo); C1,C2,C3 (alimentos comerciales para cachorros); A1,A2,A3 (alimentos comerciales para perros adultos).

- Protocolo de alimentación de las ratas

La prueba de Dig. *in vivo* se realizó por el método del índice fecal mediante el cual, las 60 ratas fueron distribuidas aleatoriamente en 10 grupos de seis ratas cada uno con promedios y desviaciones de pesos similares. Cada animal se colocó en una jaula metabólica y se le proporcionó agua ad-libitum, y 15 g/día de la respectiva dieta. Las dietas a prueba fueron suministradas, por un periodo preliminar de cuatro días para su

aclimatación y limpieza del tracto digestivo de restos del alimento anterior, y un periodo de experimentación de cinco días. Durante los cinco días se recogieron el alimento sobrante y las heces. Al final de los cinco días el alimento sobrante y las heces fueron pesados. Luego, las heces se desecaron en la estufa a 100°C, se pesaron, se trituraron y se determinó su contenido de N mediante el método de Kjeldahl (AOAC,1995).

La digestibilidad aparente (DA) para cada animal se calculó de la siguiente forma:

$$DA = \frac{(\text{nitrógeno ingerido} - \text{nitrógeno en heces}) \times 100}{\text{nitrógeno ingerido}}$$

Determinación de la digestibilidad proteica *in vitro* (Dig. *In vitro*)

Se realizaron seis pruebas de digestibilidad para cada insumo y alimento comercial, empleando el método de la pepsina estandarizado en el Laboratorio de Bioquímica, Nutrición y Alimentación de la Facultad de Medicina Veterinaria de la UNMSM. Las muestras analizadas se molieron finamente y se tamizaron a través de una malla de 1 mm luego, se dejó incubando en baño maría 0.5 g de muestra con 0.5 g de pepsina y 50 ml de HCl 0.1 N, por 20 horas, a 39°C. Después de filtrar y lavar el residuo, con agua caliente hasta que la reacción de BIURET fuera negativa, se determinó por el método de Kjeldahl el contenido de proteína no digerida por la acción enzimática. La digestibilidad de las proteínas *in vitro* se expresó como el porcentaje de proteínas digeridas en relación al contenido proteico total de la muestra.

Diseño y análisis estadístico

Los cuatro insumos proteicos, las dietas de cachorros y las dietas de perros adultos (Factor A) fueron sometidos a la prueba de digestibilidad proteica *in vivo* e *in vitro* (Factor B) con seis repeticiones cada uno en un arreglo factorial 4 x 2. Los resultados fueron sometidos al análisis de varianza y la comparación de medias se realizó usando la

prueba de Tukey ($p < 0.05$); además se empleó el análisis de correlación y regresión entre la digestibilidad proteica *in vivo* e *in vitro*. El nivel de confianza utilizado fue del 95%. Los cálculos se realizaron con el programa estadístico SPSS 12.0.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En el Cuadro 4, se observan los resultados del análisis químico proximal de los insumos proteicos evaluados. Los niveles de proteína obtenidos para la torta de soya, harina de carne y harina de pollo son similares a los valores en base seca señalados por la NRC (1985).

Cuadro 4. Composición química proximal de los insumos proteicos¹ evaluados
(Base Seca)

	TS	HC	HP	Control
Materia Seca (g/100 g)	92.1	96.6	97.6	97.1
Proteína (g/100 g)	48.9	53.5	62.0	88.1
Extracto Etéreo (g/100 g)	1.9	12.8	13.8	0.1
Fibra Cruda (g/100 g)	3.5	0.8	1.3	---
Cenizas (g/100 g)	7.7	23.6	13.0	3.4
Extracto No Nitrogenado (g/100 g)	37.8	9.2	9.8	8.4

¹ TS (Torta de soya), HC (Harina de carne), HP (Harina de pollo), Control (caseinato de sodio)

Los resultados del análisis proximal de los alimentos comerciales se muestran en el Cuadro 5. En este Cuadro se observa que los valores de humedad, proteína y fibra cruda obtenidos en el ensayo están dentro de los límites del mínimo y máximo declarados en la etiqueta. Sin embargo, el extracto etéreo obtenido en el ensayo resultó estar por debajo de lo indicado en la etiqueta con mayor notoriedad en las muestras C3 y A3. Esto podría deberse a múltiples factores como: Fallas en el proceso de elaboración, conservación

ó tipo de empaque; ó fallas en la técnica empleada para la determinación del contenido graso.

Cuadro 5. Composición química proximal de los alimentos comerciales comparada con la composición mostrada en la etiqueta (Base Húmeda)

		Humedad (g/100g) (max)*	Proteína (g/100g) (min)*	Extracto Etéreo (g/100g) (min)*	Fibra Cruda (g/100g) (max)*	Cenizas (g/100g)	Extracto No Nitrogenado (g/100g)
C1	Análisis	4.8	30.1	17.8	3.5	6.8	36.6
	Etiqueta	10.0 *	32.0 *	21.0 *	4.0 *	---	---
C2	Análisis	6.1	26.0	6.0	1.6	6.4	54.0
	Etiqueta	12.0*	25.0 *	7.5 *	3.0 *	---	---
C3	Análisis	3.4	25.6	7.7	1.6	5.5	56.0
	Etiqueta	10.0*	26.0 *	14.0 *	3.5 *	---	---
A1	Análisis	4.1	26.0	14.6	3.1	6.4	45.8
	Etiqueta	10.0*	28.0 *	18.0 *	5.0 *	---	---
A2	Análisis	6.2	21.4	6.2	2.0	10.2	54.0
	Etiqueta	12.0 *	19.0 *	7.0 *	3.0 *	---	---
A3	Análisis	6.2	20.6	5.4	1.7	4.8	61.2
	Etiqueta	10.0*	21.0*	10.0 *	3.5 *	---	---

C1,C2,C3 (Alimentos comerciales para cachorros); A1, A2,A3 (Alimentos comerciales para perros adultos).

En el Cuadro 6 se observan los resultados del análisis químico proximal y la densidad energética de las dietas experimentales utilizadas en la determinación de la Dig. *in vivo*. En este Cuadro se puede observar que los valores de proteína de las dietas experimentales estuvieron alrededor del 10% tal como lo indica la AOAC (1990); además se observa que las dietas experimentales son aproximadamente isocalóricas, siendo éste

un factor importante ya que la cantidad de alimento que el animal consume va a depender de su contenido de energía (Iams, 2000).

Cuadro 6. Composición química proximal y densidad energética de las dietas¹ experimentales utilizadas en la determinación de la digestibilidad proteica *in vivo* (Base Seca)

*Calculado con el factor de atwater modificado: Proteínas (3,5), Hidratos de carbono (3.5) y Lípidos(8.5).

¹ TS (Torta de soya), HC (Harina de carne), HP (Harina de pollo) ; C1 ,C2 y C3: (Alimentos comerciales para cachorros) ; ,A1, A2 y A3: (Alimentos comerciales para perros adultos); Control (Caseinato de sodio)

Los resultados de digestibilidad proteica *in vivo* e *in vitro* de los insumos y las

	DIETA									
	TS	HC	HP	C1	C2	C3	A1	A2	A3	Control
Humedad (g/100g)	5.2	4.4	5.4	5.3	5.8	4.0	4.7	5.3	5.9	4.8
Materia Seca (g/100g)	94.8	95.6	94.5	94.7	94.2	96.0	95.2	94.7	94.1	95.2
Proteína (g/100g)	11.2	10.8	10.7	11.3	11.4	11.4	10.4	11.1	11.1	10.2
Extracto Etéreo (g/100g)	11.3	10.4	10.4	10.0	8.8	12.3	10.2	7.8	10.4	9.4
Fibra Cruda (g/100g)	3.8	2.8	3.4	2.6	1.7	3.2	3.7	3.1	3.0	2.8
Cenizas (g/100g)	3.0	5.8	3.8	3.3	3.4	3.4	3.6	4.2	2.8	2.7
Extracto No Nitrog. (g/100g)	70.6	70.1	71.8	72.8	74.7	69.6	72.2	72.8	72.2	75.0
* Densidad De Energía (Mcal/kg)	3.6	3.6	3.5	3.6	3.5	3.7	3.6	3.4	3.6	3.6

muestras de alimento concentrado para cachorros y perros adultos se muestran en orden decreciente en los Cuadros 7, 8 y 9. Como resultado del análisis de varianza se observó que la digestibilidad proteica *in vitro* es siempre estadísticamente mayor ($p < 0.05$) que la

digestibilidad proteica aparente *in vivo* con una diferencia entre ambos métodos que va del 0.8% al 8.5% siendo el promedio 5.6%; con excepción de la harina de pollo que mostró una digestibilidad *in vitro* menor a la esperada; probablemente debido a que esta harina tendría un alto contenido de plumas que estaría haciendo disminuir su digestibilidad al ser atacada con una sola enzima (pepsina). Estos tres Cuadros muestran el promedio \pm D.E de 6 ratas en el caso de la digestibilidad *in vivo* y de seis réplicas en el caso de la digestibilidad *in vitro*.

Cuadro 7. Digestibilidad proteica *in vivo* e *in vitro* de los insumos proteicos evaluados

Insumo ³ (%Proteína)	Dig. <i>in vivo</i>	Dig. <i>in vitro</i>	Promedio	Signif. ¹
	(%) Prom. \pm D.E	(%) Prom. \pm D.E	Prom. \pm D.E	p< 0.05
Control _(88.1)	91.0 ^{a2} \pm 1.4	98.8 ^a \pm 0.4	94.9 \pm 0.9	*
TS _(48.9)	83.1 ^b \pm 1.0	90.2 ^b \pm 0.7	86.6 \pm 0.8	*
HP _(62.0)	73.8 ^c \pm 1.1	74.6 ^c \pm 0.9	74.2 \pm 1.0	ns
HC _(53.5)	71.8 ^c \pm 2.7	79.5 ^d \pm 1.2	75.6 \pm 2.0	*
Promedio	79.9 \pm 1.6	85.8 \pm 0.8		

¹ *Diferencia significativa entre técnicas al p< 0.05; ns no hay diferencia significativa.

² Letras diferentes en columnas son estadísticamente diferentes (p< 0.05)

³ Control (Caseinato de sodio), TS (Torta de soya), HP (Harina de pollo), HC (Harina de carne).

Cuadro 8. Digestibilidad proteica *in vivo* e *in vitro* de los alimentos comerciales para cachorros

Alimento Cachorro ³ %Proteína	Dig. <i>in vivo</i> (%)	Dig. <i>in vitro</i> (%)	Promedio	Signif. ¹
	Prom. ± D.E	Prom. ± D.E	Prom. ± D.E	p< 0.05
Control _(88.1)	91.0 ^{a2} ± 1.4	98.8 ^a ± 0.4	94.9 ± 0.9	*
C1 _(32.0)	81.6 ^b ± 1.1	85.9 ^b ± 1.2	83.8 ± 1.2	*
C2 _(27.6)	81.0 ^b ± 1.9	86.5 ^b ± 1.1	83.8 ± 1.5	*
C3 _(26.6)	74.9 ^c ± 0.7	83.4 ^c ± 0.9	79.2 ± 0.8	*
Promedio	82.1 ± 1.3	88.6 ± 0.9		

¹ *Diferencia significativa entre técnicas al p< 0.05; ns no hay diferencia significativa.

² Letras diferentes en columnas son estadísticamente diferentes (p< 0.05)

³ Control (Caseinato de sodio); C1 ,C2 y C3 (Alimentos comerciales para cachorros)

Cuadro 9. Digestibilidad proteica *in vivo* e *in vitro* de los alimentos comerciales para perros adultos

Alimento Adulto ³ %Proteína	Dig. <i>in vivo</i> (%)	Dig. <i>in vitro</i> (%)	Promedio	Signif. ¹
	Prom. ± D.E	Prom. ± D.E	Prom. ± D.E	p< 0.05
Control _(88.1)	91.0 ^{a2} ± 1.4	98.8 ^a ± 0.4	94.9 ± 0.9	*
A1 _(27.1)	80.7 ^b ± 0.7	86.1 ^b ± 1.2	83.4 ± 1.0	*
A2 _(22.0)	78.9 ^{b,c} ± 1.2	84.2 ^c ± 0.9	81.6 ± 1.1	*
A3 _(22.8)	77.6 ^c ± 0.8	82.0 ^d ± 0.9	79.8± 0.8	*
Promedio	82.1 ± 1.0	87.8 ± 0.8		

¹ *Diferencia significativa entre técnicas al p< 0.05; ns no hay diferencia significativa.

² Letras diferentes en columnas son estadísticamente diferentes (p< 0.05)

³ Control (Caseinato de sodio) ; A1, A2 y A3 (Alimentos comerciales para perros adultos).

La Dig. *in vivo* de la torta de soya obtenida en el presente trabajo (83.1%) está dentro del rango de los valores en perros que reportan Kendall y Holme (1982) el cual es del 71 al 87% (citado por: National Research Council, 1985).

Por otro lado, los valores de digestibilidad proteica de la harina de carne y la harina de pollo fueron los más bajos tanto en el método *in vivo* como en el *in vitro*; confirmando lo citado por Hand *et al.* (2000), que la calidad de estas harinas es muy variable y no depende solo de su contenido proteico.

Los resultados de Dig. *in vivo* para la torta de soya, harina de carne y harina de pollo difieren con los hallados por Silva *et al.* (2003) en los cuales no se encontraba una diferencia muy marcada entre estos tres insumos y además sus valores de Dig. *in vivo* estuvieron por encima del 96 %. De igual manera, la Dig. *in vivo* de la caseína obtenida por Silva *et al.* (2003) fue casi total (98.91%) y comparándolo con el resultado obtenido por Carias *et al.* (1995) que fue de 94%, vemos que este último es muy similar al obtenido en nuestro trabajo. De esta manera se confirma otra vez la gran variabilidad de estas harinas.

En contraste, los resultados de digestibilidad proteica *in vivo* de las muestras de alimentos comerciales hallados en el presente estudio, son similares a los obtenidos en perros por Saavedra (1996) y Quezada (1988) los cuales estuvieron en el rango del 71.5% al 83%.

En la Figura 1 podemos observar que la digestibilidad *in vitro* con pepsina de todas las muestras analizadas fue mayor que su digestibilidad aparente *in vivo* en ratas y además, la caseína y la torta soya tuvieron los valores más altos de digestibilidad proteica, independientemente del método utilizado. Similares resultados hallaron Carias *et al.* (1995) en donde, la caseína y la torta de soya también obtuvieron los valores más altos de digestibilidad tanto *in vivo* como *in vitro*.

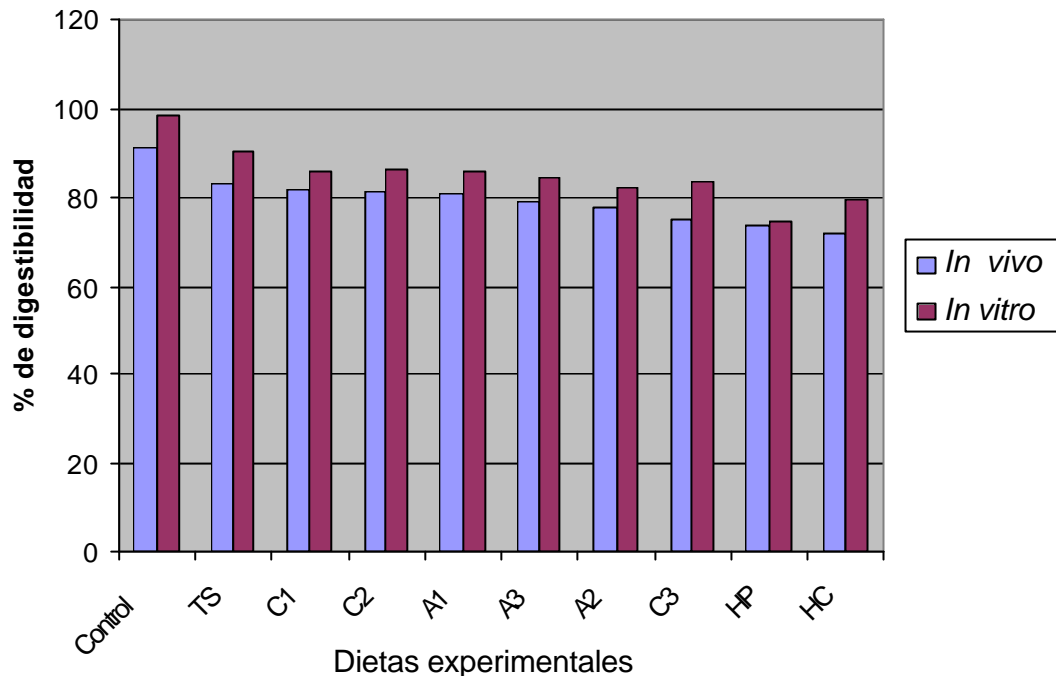


Figura 1 . Promedio de digestibilidad *in vivo* e *in vitro* de insumos y alimentos comerciales para perros. TS (Torta de soya), HC (Harina de carne), HP (Harina de pollo), Control (Caseinato de sodio) ; C1 ,C2 y C3 (Alimentos comerciales para cachorros) ; ,A1, A2 y A3 (Alimentos comerciales para perros adultos).

La Figura 2 muestra la relación entre la digestibilidad aparente *in vivo* de las diez muestras estudiadas y la digestibilidad de las mismas muestras determinadas *in vitro* con el método de la pepsina. Los resultados indican que existe una alta correlación (Coef. Correl.= 0.94) entre los métodos *in vivo* e *in vitro* y que a su vez es comparable al coeficiente de correlación obtenido por Carias *et al.* (1995) que fue de 0.929. Además, se observa que a mayor digestibilidad del alimento, se presenta un mayor grado de correlación entre ambos métodos.

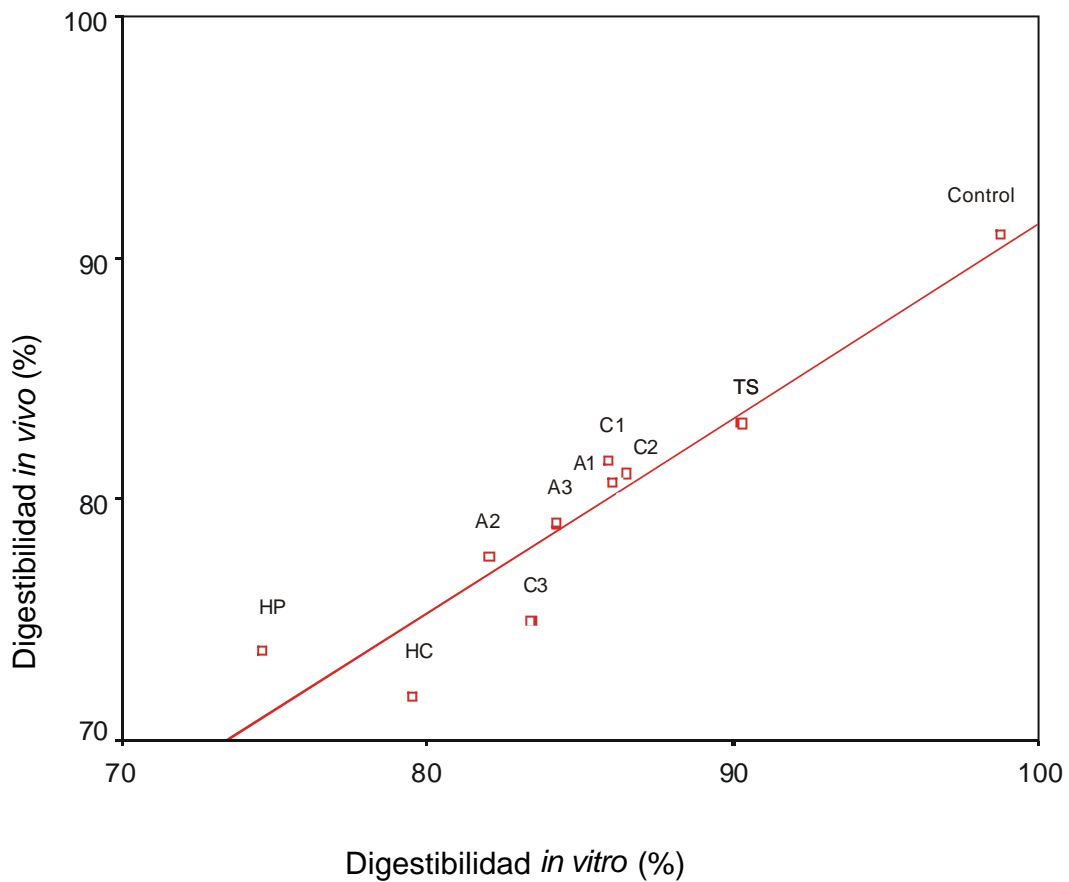


Figura 2. D *n vitro* de los
 insumos y alimentos comerciales para perros. Control (Caseinato de sodio),
 TS (Torta de soya), HC (Harina de carne), HP (Harina de pollo); C1 ,C2 y
 C3 (Alimentos comerciales para cachorros); A1, A2 y A3 (Alimentos
 comerciales para perros adultos).

La ecuación de regresión obtenida fue la siguiente:

$$Y, \textit{in vivo} = 11.037 + 0.804 (X, \textit{in vitro})$$

Esta ecuación se puede utilizar para estimar el valor de la digestibilidad *in vivo* de un alimento a partir de la determinación de su digestibilidad *in vitro* con pepsina.

Sin embargo, solo cuando la digestibilidad *in vitro* es alta (> 80%), la diferencia entre ambos métodos va a aproximarse al valor promedio obtenido en nuestro ensayo (5.6%). Por ejemplo, con una digestibilidad *in vitro* del 85 % se obtiene una digestibilidad *in vivo* de 79%, con una diferencia entre ambos métodos del 6%. Pero cuando la digestibilidad *in vitro* es 70%, la digestibilidad *in vivo* obtenida será del 67 %; en este caso la diferencia entre ambos métodos es menor al promedio obtenido en nuestro ensayo.

Por otro lado, el coeficiente de correlación entre la digestibilidad proteica *in vivo* e *in vitro* analizados por separado fue de 0.961 para los insumos proteicos con la siguiente fórmula de regresión: $Y, \text{ in vivo} = 12.280 + 0.789 (X, \text{ in vitro})$; en el caso de los alimentos comerciales para cachorros la correlación fue de 0.961 con la siguiente fórmula de regresión: $Y, \text{ in vivo} = -0.252 + 0.929 (X, \text{ in vitro})$. Por último, con la mayor correlación (1.0) resultaron los alimentos comerciales para perros adultos con su fórmula de regresión: $Y, \text{ in vivo} = 10.783 + 0.812 (X, \text{ in vitro})$.

CONCLUSIONES

Existe una alta correlación entre los métodos de determinación de la digestibilidad proteica *in vivo* e *in vitro* (Coef. Correl. = 0.94).

La digestibilidad proteica *in vitro* tiende a ser mayor que la digestibilidad proteica *in vivo*.

La técnica *in vitro* es un buen método para estimar la digestibilidad proteica del insumo ó concentrado utilizado en caninos.

RECOMENDACIONES

- Realizar estudios de correlación entre la digestibilidad proteica *in vivo* en ratas y perros.
- Incluir la digestibilidad en la evaluación de la calidad de los insumos y/o alimentos comerciales para caninos, ya que un porcentaje alto o bajo en proteína no es suficiente para determinar su calidad nutritiva.

BIBLIOGRAFÍA CITADA

1. **AOAC. *Official Methods of Analysis*.1990.** Pepsin digestibility of animal protein feeds.p 78-79. EEUU.
2. **AOAC. *Official Methods of Analysis*.1995.** True protein digestibility of foods and food ingredients. 2:62. Maryland, EEUU.
3. **Arbaiza,F.1997.** Evaluación Química del contenido de nutrientes de los alimentos Fac. de Medicina Veterinaria, UNMSM. Lima, Perú.13 p
4. **Bondi,A.1988.** Nutrición animal. 1ºed. p.109-120,293-305. Ed. Acribia, Zaragoza.
5. **Carias,D; Cioccia, A; Hevia,P. 1995.** Grado de concordancia entre la digestibilidad de proteínas animales y vegetales medidas in vivo e in vitro y su efecto sobre el cómputo químico. Archivos latinoamericanos de nutrición. Lab. Nutr, Univ. Simón Bolívar. Caracas. 45(2). p.111-116.
6. **Case, L.P.; D.P. Carey; D.A. Hirakawa. 1997.** Nutrición canina y felina.2^{da} ed. Ed. Harcourt Brace, España. 455p.
7. **Cheftel,JC; J.L. Cuq; D.Lorient.1989.** Proteínas Alimentarias. 1ª ed. p107-273. Ed. Acribia . España.
8. **Church, D.C. and W.G.Pond.1990.** Fundamentos de nutrición y alimentación de animales. 2^{da} ed. p.51-60. Ed. Limusa. México.
9. **Concellón, A.1978.** Nutrición animal práctica .2ª ed . p 194-203. Ed Aedos, España.
10. **Córdova, P.1993.** Alimentación animal. p. 1ª ed. 48-61. Ed.Concytec. Perú.

11. **Dale, N.1997 (a).** Avances en la cuantificación del valor nutritivo la harina de carne. *Rev.Industria Avícola*. 44(11): 40-41.
12. **Dale, N.1997 (b).** Formulando con soya sobreprocesada. *Rev.Industria Avícola*.44 (3):52-53
13. **Eckert,R.1991.** Fisiología animal. Mecanismos y adaptaciones. 3 ed. p.544-550. Mc Graw-Hill Interamericana. España.

14. **Edney,A.1989.** Nutrición de perros y gatos. 2ª ed. p.139-140. Ed. Acribia. Zaragoza, España.
15. **El Boushy.1986.** Local processing industries offer food and beneficial by products to developing countries. Feedstuffs 58(3):37-39
16. **Fataccioli, D.1981.** Evaluación biológica de la harina de plumas en ratas y ovinos. Tesis Bachillerato Fac. Zootecnia UNALM. p. 17-22
17. **FAO/OMS: Informe de una Consulta de expertos .1992.**Evaluación de la calidad de las proteínas. EE.UU. 57p.
18. **FAO/OMS/UNU: Informe De una reunión consultiva conjunta de expertos .1985.** Necesidades de energía y proteínas. España. p. 127-139
19. **García Sacristán, A.1995.** Fisiología veterinaria. 1 ed. p. 554-598. Ed. Mc Graw-Hill Interamericana. España.
20. **Hand,M; Thatcher,C; Remillard,R; Roudebush.P.2000.** Nutrición Clínica En Pequeños Animales. 4º ed. 1368p. Ed. Mark Morris Institute. EEUU
21. **Iams Company.2000.** Densidad de nutrientes-Medida del contenido nutritivo de los alimentos para mascotas. Bol Tec. (12).Iams.EEUU.2p
22. **Mc Donald, P ; Edwards, R; Greenhalgh, J. 1986.** Nutrición animal. 3ª ed. p 45-60, 201-215. Ed. Acribia, Zaragoza.
23. **National Research Council. 1985.** Nutrient requirements of dogs. p.9-14. Ed. National academy press. Washington, EEUU.
24. **National Research Council. 1994.** Nutrient Requirements of Poultry, 9th edition. Ed. National Academy Press, Washington,EEUU
25. **Piccioni, H. 1970.** Diccionario de Alimentación animal. Ed. Acribia. España. 819p
26. **Quezada, Q.E.1988.** Evaluación bajo condiciones de la extrusión sobre la aceptación y digestibilidad de las principales fracciones nutritivas de dietas para perros en etapa de crecimiento temprano. Memoria para optar al Título de Médico Veterinario de Ciencias Veterinarias y Pecuarias. Universidad de Chile. Santiago, Chile. 75p

- 27. Saavedra, E. 1996.** Valor nutritivo de dietas secas comerciales para perros. Memoria para optar al Título de Médico Veterinario de Ciencias Veterinarias y Pecuarias. Universidad de Chile. Santiago, Chile. 92p
- 28. Silva, H; Arbaiza, T; Carcelén, F; Lucas, O. 2003.** Evaluación Biológica de ratas de laboratorio (*Rattus norvegicus*) de fuentes proteicas usadas en alimentos comerciales para perros. Rev. Inv. Vet Perú 14(1):18-23.

APÉNDICE

Apéndice 1. Digestibilidad *in vivo* (Dig.*in vivo*) de alimentos comerciales

		Alimento Consumido (g)	Nitrógeno Consumido	Nitrógeno Excretado (heces)	Dig . in vivo (%)	Dig. <i>in vivo</i> (%)
						0
C1	Rata 1	71.0407	8.01	1.56	80.52	
	Rata 2	74.8153	8.44	1.45	82.82	
	Rata 3	72.2337	8.15	1.57	80.74	
	Rata 4	74.5084	8.40	1.46	82.62	81.57
	Rata 5	66.3493	7.48	1.33	82.22	
	Rata 6	74.6053	8.42	1.64	80.52	
C2	Rata 1	39.6670	4.52	0.93	79.42	
	Rata 2	57.6914	6.57	1.29	80.37	
	Rata 3	48.1553	5.48	0.91	83.39	81.03
	Rata 4	56.9247	6.48	1.36	79.01	
	Rata 5	28.7821	3.28	0.64	80.49	
	Rata 6	44.1937	5.03	0.83	83.50	
C3	Rata 1	44.9468	5.11	1.23	75.93	

	Rata 2	68.1012	7.74	1.94	74.94	
	Rata 3	41.2713	4.69	1.19	74.63	74.94
	Rata 4	73.0918	8.30	2.15	74.10	
	Rata 5	45.9494	5.22	1.34	74.33	
	Rata 6	42.3386	4.81	1.17	75.68	
A1	Rata 1	58.8585	6.11	1.25	79.54	
	Rata 2	74.8764	7.77	1.46	81.21	
	Rata 3	65.4135	6.79	1.34	80.27	80.73
	Rata 4	74.7214	7.76	1.48	80.93	
	Rata 5	74.4665	7.73	1.47	80.98	
	Rata 6	74.6191	7.75	1.44	81.42	
A2	Rata 1	50.7184	5.65	1.33	76.46	
	Rata 2	73.5578	8.19	1.90	76.80	
	Rata 3	74.6235	8.31	1.87	77.50	77.57
	Rata 4	74.4645	8.23	1.77	78.49	
	Rata 5	63.9380	7.12	1.57	77.95	
	Rata 6	72.5703	8.08	1.76	78.22	
A3	Rata 1	53.0518	6.05	1.31	78.35	
	Rata 2	51.6436	5.89	1.30	77.93	
	Rata 3	63.8747	7.29	1.56	78.60	78.97
	Rata 4	67.7485	7.73	1.47	80.98	
	Rata 5	64.0253	7.31	1.60	78.11	
	Rata 6	71.3751	8.14	1.64	79.85	

C1 ,C2 y C3 (Alimentos comerciales para cachorros); A1, A2 y A3 (Alimentos comerciales para perros adultos)

Apéndice 2. Digestibilidad *in vivo* (Dig. *in vivo*) en insumos proteicos

		<i>Alimento Consumido</i> (g)	Nitrógeno Consumido	Nitrógeno Excretado (heces)	Dig. <i>in vivo</i> (%)	Dig. <i>in vivo</i> (%)
		0				
TS	Rata 1	66.9036	7.47	1.29	82.73	
	Rata 2	68.4764	7.65	1.31	82.88	
	Rata 3	71.1145	7.94	1.32	83.38	83.10
	Rata 4	73.7971	8.24	1.38	83.25	
	Rata 5	74.1592	8.28	1.26	84.78	
	Rata 6	70.9482	7.92	1.46	81.57	
HC	Rata 1	54.5843	5.92	1.85	68.75	
	Rata 2	47.6804	5.17	1.49	71.18	
	Rata 3	42.1764	4.58	1.21	73.58	71.80
	Rata 4	43.9610	4.89	1.54	68.51	
	Rata 5	28.6411	3.18	0.80	74.84	
	Rata 6	42.4290	4.72	1.23	73.94	
HP	Rata 1	40.8131	5.06	1.26	75.10	

	Rata 2	51.0258	6.32	1.62	74.37	
	Rata 3	50.2790	6.23	1.64	73.68	73.75
	Rata 4	39.1270	4.19	1.18	71.84	
	Rata 5	39.4789	4.22	1.11	73.70	
	Rata 6	60.2495	6.45	1.69	73.80	
CONTROL	Rata 1	73.4089	8.19	0.66	91.94	
	Rata 2	74.1344	8.27	0.88	89.36	
	Rata 3	74.0602	8.27	0.74	91.05	91.04
	Rata 4	71.0367	7.25	0.57	92.14	
	Rata 5	64.2787	6.56	0.70	89.33	
	Rata 6	66.9219	6.83	0.52	92.39	

TS (Torta de soya); HC (Harina de carne); HP (Harina de pollo); Control (Caseinato de sodio)

Apéndice 3. Digestibilidad proteica *in vitro* (Dig. *in vitro*) con pepsina en alimentos comerciales

		Dig. <i>in vitro</i> (%)	Dig. <i>in vitro</i> (%)
			0
C1	Tubo 1	86.23	
	Tubo 2	84.52	
	Tubo 3	84.52	85.94
	Tubo 4	86.23	
	Tubo 5	87.34	
	Tubo 6	86.82	
C2	Tubo 1	85.22	
	Tubo 2	85.84	
	Tubo 3	85.84	86.54
	Tubo 4	87.22	

	Tubo 5	87.22	
	Tubo 6	87.91	
C3	Tubo 1	82.93	
	Tubo 2	82.31	
	Tubo 3	84.96	83.40
	Tubo 4	83.63	
	Tubo 5	83.63	
	Tubo 6	82.93	
A1	Tubo 1	85.85	
	Tubo 2	84.54	
	Tubo 3	84.54	86.10
	Tubo 4	87.85	
	Tubo 5	86.54	
	Tubo 6	87.23	
A2	Tubo 1	82.79	
	Tubo 2	82.79	84.21
	Tubo 3	81.20	
	Tubo 4	82.79	
	Tubo 5	82.79	
	Tubo 6	81.20	
A3	Tubo 1	83.95	
	Tubo 2	83.08	82.00
	Tubo 3	85.59	
	Tubo 4	83.95	
	Tubo 5	83.95	
	Tubo 6	84.72	

C1,C2 y C3 (Alimentos comerciales para cachorros) ;
A1, A2 y A3 (Alimentos comerciales para perros adultos)

Apéndice 4. Digestibilidad proteica *in vitro* (Dig. *in vitro*) con pepsina en insumos proteicos

		Dig. <i>in vitro</i> (%)	Dig. <i>in vitro</i> (%)
			0
TS	Tubo 1	89.51	
	Tubo 2	89.50	
	Tubo 3	91.42	90.27
	Tubo 4	90.27	
	Tubo 5	90.67	
	Tubo 6	90.27	
HC	Tubo 1	78.32	
	Tubo 2	78.32	

	Tubo 3	79.33	79.51
	Tubo 4	81.38	
	Tubo 5	80.02	
	Tubo 6	79.67	
HP	Tubo 1	74.55	
	Tubo 2	74.55	
	Tubo 3	73.39	74.59
	Tubo 4	73.95	
	Tubo 5	75.40	
	Tubo 6	75.70	
CONTROL	Tubo 1	98.97	
	Tubo 2	98.57	
	Tubo 3	98.57	98.77
	Tubo 4	98.15	
	Tubo 5	99.18	
	Tubo 6	99.18	

TS (Torta de soya); HC (Harina de carne); HP (Harina de pollo);
Control (Caseinato de sodio)

Apéndice 5. Requerimientos nutricionales estimados para mantenimiento, crecimiento y reproducción de ratas.

NUTRIENTE	UNIDA MANTENIMIEN		CRECIMIEN	REPRODUCCIÓ
	D	TO	TO	N HEMBRA
GRASA	g	50	50	50
Acido linoleico (n-6)	g	A	6.0 a	3.0 a
Acido linolenico (n3)	g	R	R	R
PROTEINA	g	50.0 b	150.0 b	150
Aminoácidos c				

Arginina	g	ND	4.3	4.3
Aromáticos AAS d	g	1.9	10.2	10.2
Histidina	g	0.8	2.8	2.8
Isoleucina	g	3.1	6.2	6.2
Leucina	g	1.8	10.7	10.7
Lisina	g	1.1	9.2	9.2
Metionina + cistina e	g	2.3	9.8	9.8
Treonina	g	1.8	6.2	6.2
Triptófano	g	0.5	2.0	2.0
Valina	g	2.3	7.4	7.4
Otros (incluyendo los no esenciales)	g	f	66	66

MINERALES

Calcio	g	g	5.0	6.3
Cloro h	g	g	0.5	0.5
Magnesio	g	g	0.5	0.6
Fósforo	g	g	3.0	3.7
Potasio h	g	g	3.6	3.6
Sodio	g	g	0.5	0.5
Cobre	mg	g	5.0	8.0
Hierro	mg	g	35	75
Manganeso	mg	g	10	10
Zinc i	mg	g	12	25
Yodo	µg	g	150	150
Molibdeno	µg	g	150	150
Selenio	µg	g	150	400

VITAMINAS

A (retinol) j	mg	g	0.7	0.7
D (coleciferol) k	mg	g	0.025	0.025
E (RRR- á-tocoferol) l	<u>mg</u>	g	18	18
K	mg	g	1.0	1.0
Biotina	mg	g	0.2	0.2
Colina	mg	g	750	750
Acido Fólico	mg	g	1.0	1.0
Niacina	mg	g	15	15
Pantotenato	mg	g	10	10
Riboflavina	mg	g	3.0	4.0
Tiamina m	mg	g	4.0	4.0
B ₆ n	mg	g	6.0	6.0
B ₁₂	µg	g	50	50

Nota: Los requerimientos nutricionales son expresados en dietas ofrecidas que contienen 10% de humedad y 3.8 – 4.1 Kcal ME/g (16 – 17 Kj ME/g) y pueden ser ajustados para dietas de diferentes humedades y concentraciones de energía. A menos

que no existan otros métodos específicos, la lista de concentraciones de nutrientes representa los requerimientos mínimos y no incluye un margen de seguridad. Altas concentraciones de muchos nutrientes pueden ser garantizadas en dietas de ingredientes naturales. R, requerido pero no en concentraciones determinadas, otra cadena larga de ácido graso n₃ poli-insaturado puede sustituirse por ácido linolénico. ND, no determinado.

- a. Hembras requieren solo 2 g/kg de linoleato para crecimiento. Requerimientos diferentes para mantenimiento no son determinados por linoleato. Los requerimientos presentados para crecimiento serán también requerimientos de mantenimiento.
- b. Estimados basados en proteína altamente digestible de la composición de aminoácidos balanceados (lactoalbúmina).
- c. Asparagina, ácido glutámico y prolina podrán ser requeridos para crecimiento acelerado.
- d. Fenilalanina más tirosina. Tirosina puede suministrar más del 50 % de los requerimientos de ácido aromático.
- e. Cistina puede suministrar más de 50% de los requerimientos de la metionina y cistina en peso base.
- f. 41.3 g/Kg dieta como una mezcla de glicina, L-alanina y L-serina.
- g. Requerimientos diferentes a los de mantenimiento no serán determinados para minerales y vitaminas. Requerimientos presentados para crecimiento serán también para mantenimiento.
- h. Los cálculos representan cantidades adecuadas más que requerimientos reales.
- i. Alta concentración es requerida cuando ingredientes que contienen fitato (como harina de soya) son incluidos en la dieta.
- j. Equivalente a 2300 IU/g. Requerimiento puede ser también por 1.3 mg â caroteno/Kg de dieta. Alta concentración de vitamina A es necesitado bajo condiciones de estrés.
- k. Equivalente a 1000 IU/Kg.
- l. Equivalente a 27 IU/Kg. Alta concentración es requerida si son alimentados con dietas altamente grasosas.
- m. Alta concentración puede ser requerida en dietas con niveles bajos de proteína y altos en carbohidratos.
- n. Los cálculos representan cantidades adecuadas más que requerimientos reales.

Fuente: National Research Council (1994).

Apéndice 6. Requerimientos de aminoácidos esenciales para crecimiento

%	RATA	PERRO
PROTEINA	13.3	22
Arginina	0.67	0.62
Histidina	0.33	0.22
Isoleucina	0.61	0.45
Leucina	0.83	0.72
Lisina	1.00	0.77
Metionina	0.67	Met+Cisteina 0.53
Fenilalanina	0.89	Fenilalan+Tirosina 0.89
Treonina	0.56	0.58
Triptófano	0.17	0.2
Valina	0.67	0.48