

UNIVERSIDAD DE LA FRONTERA
FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS Y FORESTALES



**EVALUACION DE LA DIGESTIBILIDAD INTESTINAL DE ALIMENTOS
PROTEICOS DE ORIGEN VEGETAL UTILIZADOS EN LA ALIMENTACIÓN DE
RUMIANTES.**

Tesis presentada a la Facultad de Ciencias Agropecuarias y Forestales de la Universidad de La Frontera, como parte de los requisitos para optar al título de Ingeniero Agrónomo.

GISELA ALEXANDRA MARCHANT GONZALEZ

TEMUCO – CHILE

2012

UNIVERSIDAD DE LA FRONTERA
FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS Y FORESTALES



**EVALUACION DE LA DIGESTIBILIDAD INTESTINAL DE ALIMENTOS
PROTEICOS DE ORIGEN VEGETAL UTILIZADOS EN LA ALIMENTACIÓN DE
RUMIANTES.**

Tesis presentada a la Facultad de Ciencias Agropecuarias y Forestales de la Universidad de La Frontera, como parte de los requisitos para optar al título de Ingeniero Agrónomo.

GISELA ALEXANDRA MARCHANT GONZALEZ
PROFESOR GUÍA: CLAUDIA BARCHIESI FERRARI
TEMUCO-CHILE

2012

**EVALUACION DE LA DIGESTIBILIDAD INTESTINAL DE ALIMENTOS
PROTEICOS DE ORIGEN VEGETAL UTILIZADOS EN LA ALIMENTACION DE
RUMIANTES.**

PROFESOR GUIA

: CLAUDIA BARCHIESI FERRARI

Ingeniero Agrónomo, Mg. Sc. Dr. Cs.

Dpto. de Producción Agropecuaria

Universidad de La Frontera

PROFESOR CONSEJERO

: PAMELA WILLIAMS SALINAS

Ingeniero Agrónomo, Dr. Cs.

Dpto. de Producción Animal

Universidad de Concepción

CALIFICACION PROMEDIO TESIS

:

INDICE

Capítulo		Página
1	INTRODUCCION	1
2	REVISION BIBLIOGRAFICA	4
2.1	Proteínas	4
2.1.1	Degradación ruminal de proteínas	4
2.1.2	Degradación proteica a nivel ruminal	5
2.2	Tratamientos utilizados para reducir la degradabilidad ruminal de la proteína	7
2.2.1	Extrusión	8
2.2.2	Reacción de Maillard	9
2.3	Digestibilidad	9
2.3.1	Determinación de la digestibilidad intestinal de alimentos	13
2.4	Soya	15
2.5	Arveja	15
2.6	Lupino	16
3	MATERIALES Y MÉTODOS	17
3.1	Alimentos	17
3.2	Obtención de los residuos	17
3.3	Evaluación de la digestibilidad intestinal	18
3.3.1	Animales y alimentos	18
3.3.2	Protocolo experimental y colección de digesta	19
3.4	Análisis de laboratorio	20
3.5	Cálculos y análisis estadístico	21
4	PRESENTACIÓN Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS	22
4.1	Composición química de los alimentos	22
4.2	Composición química de los residuos de la incubación ruminal y de las	23

	dietas experimentales	
4.3	Digestibilidad ileal verdadera	24
5	CONCLUSIONES	28
6	RESUMEN	29
7	SUMMARY	31
8	LITERATURA CITADA	32

AGRADECIMIENTOS

A Dios, que me acompañó incondicionalmente durante el largo camino emprendido en el año 2007, por mantenerme con vida y darme la oportunidad de llegar a esta instancia.

Gracias a todos quienes creyeron en mí, a las personas que siempre estuvieron conmigo y me apoyaron desde un principio alegrándose con cada logro y ayudándome a levantarme en cada tropiezo, a todos los integrantes de mi familia, a mis padres y a mis hermanos, sobre todo a mi hija que es mi mayor tesoro y que con su amor y ternura me dio la fuerza para levantarme cada día. A su papá, Andrés, porque a pesar de los cientos de kilómetros que nos separaron durante los cinco años que duraron nuestras carreras, siempre trató de estar presente, viajando cada fin de semana a visitarnos, entregándonos su amor y comprensión, hoy en día logramos mantenernos juntos y superamos las barreras que el destino impuso, finalmente hoy podemos estar junto a nuestra hijita, espero que podamos consolidarnos por fin como una hermosa familia.

Gracias a nuestro santo padre, por entregarme una madre tan maravillosa a la que siempre estaré agradecida por el infinito apoyo, amor, paciencia, por brindarme consuelo y secar mis lágrimas cada vez que lo necesité y sobre todo por dejarlo todo y mantenerme junto a mi pequeña hija durante estos 5 largos años, sin ellas no lo hubiera podido lograr.

Doy también las gracias a mi querida Gueli que siempre me apoyó y siempre estará en mi corazón, que mientras estuvo con vida nos visitó todos los años en Temuco, hasta el año 2010, cuando partió. Aunque la extraño mucho y me ha costado superar su muerte, estoy

contenta pues se que me seguirá acompañando y protegiendo hasta que nos reunamos nuevamente.

Gracias a mis amigas por su cariño y apoyo, sobre todo a una, Abigail, siempre te llevaré en mi corazón, eres una persona muy especial, incondicional y llena de bondad, con la palabra justa en el momento exacto, espero podamos seguir cultivando esta amistad a la distancia.

A mi querida directora de carrera la señora Emma Bensch Tapia, por su apoyo, consejos y comprensión hasta el último minuto de mi travesía

1 INTRODUCCIÓN

El rumiante necesita una adecuada cantidad de proteína para llevar a cabo funciones vitales como crecimiento, desarrollo, reproducción y lactancia (Flores, 2007). En nuestro país, el sistema ganadero sureño, se basa principalmente en complementar la proteína suministrada al animal en el pastoreo con concentrados de origen vegetal. Una fuente importante de suplementos proteicos la constituyen los granos de leguminosas, como la arveja (*Pisum sativum*) y el lupino dulce (*Lupinus albus*). La utilización de las dos especies antes mencionadas, surge como una interesante alternativa para reemplazar el uso del afrecho de soya (*Glycine max*) en la formulación de raciones para rumiantes, que es importado y representa el suplemento proteico más empleado a nivel mundial. Respecto al tema, cabe mencionar que, la superficie sembrada de lupino a nivel nacional ha mostrado un positivo incremento en las últimas temporadas respecto al período 2008/09 (Odepa, 2011).

En cuanto a la arveja, según información obtenida del VII Censo Nacional Agropecuario y Forestal (2007). Se estima que ha presentado una disminución de la superficie sembrada en alrededor de un 50%, respecto a la superficie sembrada a principios de la década. Esto principalmente debido a problemas de manejo en la cosecha, un inconveniente que sin lugar a dudas se puede solucionar con la introducción de nuevas variedades y con la aplicación de la tecnología que hoy en día se encuentra a nuestro alcance (Tay, 2009).

De cumplirse lo anteriormente señalado, la producción de dichas leguminosas se convertiría en un atractivo negocio para los agricultores nacionales y regionales, pues ambas especies, además de producirse en Chile y de poseer la capacidad de sustituir al afrecho de soya, tienen la aptitud de fijar nitrógeno, permitiendo el ahorro de fertilizante por parte del agricultor y el mejoramiento de los suelos del país. De este modo, constituirían una interesante alternativa comercial para los productores, pues se debe tener en cuenta, que el cultivo de estas especies, además de representar una excelente elección para la rotación de cultivos, permitiría al agricultor disminuir sus costos de producción con un producto nacional.

Estudios avalan que en sistemas de alta producción, como los existentes en el rubro lechero sobre 25 l/d, la proteína suministrada en la dieta no es suficiente para cubrir los requerimientos del animal, sólo alrededor de un 20- 30% del total ingerido es absorbido y utilizado por este (Navarro *et al.*, 2006).

Lo anterior se debe principalmente a que los alimentos proteicos de origen vegetal son degradados casi por completo por las bacterias presentes en el rumen, por lo que, la cantidad de aminoácidos que se encuentra disponible a nivel intestinal para ser absorbidos y utilizados por el bovino es inferior a lo que este necesita.

La extrusión es considerada como una posible solución a este problema, pues dicho proceso permite que alimentos proteicos que presentan alta tasa de degradación ruminal, pasen al intestino como proteína sobrepasante y que de esta forma el rumiante posea una mayor cantidad de estos polipéptidos disponibles para cubrir sus requerimientos. Así lo confirma Barchiesi (2011), quien corrobora que este proceso se ha convertido en una importante herramienta para procesar alimentos, mejorar su digestibilidad y otros aspectos nutricionales.

Por otra parte, según el NRC (1995), la falta de datos empíricos sobre la digestibilidad intestinal de la proteína obliga a la adopción de un valor constante (80%) para todos los alimentos. Sin embargo, resultados de trabajos *in vivo*, *in situ* e *in vitro* han demostrado, que hay una variación importante en la digestibilidad intestinal de las proteínas, no sólo entre suplementos proteicos, sino entre muestras distintas de este mismo. Esta variación puede tener un gran impacto en la disponibilidad de proteína para el animal. Por esta razón se hace necesaria la realización de estudios de digestibilidad a nivel intestinal de alimentos proteicos en rumiantes.

HIPÓTESIS

El proceso de extrusión de alimentos proteicos de origen vegetal incide de forma positiva en la digestibilidad de éstos a nivel intestinal.

OBJETIVOS

Objetivo general:

Evaluar la digestibilidad intestinal de la proteína cruda de alimentos proteicos de origen vegetal utilizados en la alimentación de rumiantes.

Objetivos específicos:

1. Determinar la digestibilidad a nivel intestinal de la proteína cruda de arveja y lupino.
2. Analizar el efecto de la extrusión en la digestibilidad intestinal de la proteína cruda de lupino y arveja en rumiantes.

2 REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

2.1 Proteínas

Los animales rumiantes gozan de la capacidad de subsistir sin disponer de una fuente de proteína dietética, debido a la síntesis de proteína microbiana en el interior del rumen. Los microorganismos del rumen son aprovechados por el animal y, junto con la proteína que escapa de la degradación ruminal, proporciona al intestino delgado aminoácidos para ser digeridos y absorbidos (Church, 1993).

2.1.1 Degradación ruminal de proteínas

El metabolismo proteico en el rumen es bastante complejo; los microorganismos degradan los alimentos, destruyendo inicialmente la pared de las células e iniciando el proceso hidrolítico continuo de las proteínas. La destrucción proteica por desaminación fermentativa produce dióxido de carbono, amoníaco y ácidos grasos de cadena corta (Chamorro, 2003).

El amoníaco (NH_3), es utilizado por los microorganismos si existe suficiente energía, para la síntesis de proteínas y demás componentes de las células microbianas como los componentes nitrogenados de la pared celular y los ácidos nucleicos. Hay especies de bacterias que obtienen un alto porcentaje (20-50 %) de su nitrógeno total a partir de aminoácidos y péptidos (Garriz y López, 2002).

En condiciones normales, siempre existe un escape de amoníaco desde el rumen hacia la sangre, el cual es conducido al hígado por la Vena Porta y al ser tóxico para el animal, es transformado en urea (Schmölz, 2008). Este proceso es eficiente siempre y cuando la cantidad de amoníaco absorbida no sobrepase la capacidad del hígado de conjugarlo y transformarlo en urea (Escalona

et al., 2002). La urea sintetizada en este órgano pasa a la circulación general de la sangre por la Vena Hepática y por dicha vía puede tener destinos como las paredes del rumen, donde luego es excretada hacia el mismo, para ser aprovechado como NNP. Otro modo de llegar al mismo lugar es por medio de las glándulas salivales, donde más tarde pasará al rumen con el bolo alimenticio o de la rumia (van Lier y Regueiro, 2008).

La velocidad de degradación proteica depende de la solubilidad y de la estructura de la proteína, como también de la actividad proteolítica de los microorganismos ruminales, que puede verse afectada, a su vez, por el pH (Endres y Stern, 1993), el tamaño de partícula (Tice *et al.*, 1994) y la relación forraje: concentrado (Eliman y Orskov, 1984). Varios factores también pueden afectar a la velocidad de tránsito ruminal (ingestión de agua o materia seca) y en consecuencia alterar la degradabilidad ruminal de las proteínas (Calsamiglia *et al.*, 1995).

2.1.2 Degradación proteica a nivel intestinal.

El intestino delgado es la parte más estrecha y delgada del intestino, su calibre es uniforme y su longitud variable. Es cilíndrico, enrollado en espiral, y presenta dos curvaturas llamadas gran y pequeña curvatura, esta es la que sirve para la inserción del mesenterio. Presenta tres partes iguales: duodeno, yeyuno e íleon, la cual se comunica con el ciego (Sarmiento, 2004).

En la unión del intestino delgado con el intestino grueso se localiza el ciego, que corresponde a un saco lateral de unos 10 litros de volumen. Este compartimiento está conectado al conducto digestivo por una sola abertura. Tanto las condiciones de pH como de anaerobiosis en esta cavidad dan lugar a un nuevo proceso de fermentación microbiana de aquellos nutrientes que hasta aquí no han sido digeridos o absorbidos por el animal (Church, 1974). Dicha fermentación no es de fundamental importancia para el rumiante, tanto por su escaso volumen como por el bajo índice de absorción que en el intestino grueso tienen a los compuestos resultantes de este proceso (Sarmiento, 2004)

Según Díaz *et al.*, (2008), la degradación de las proteínas sobrepasantes y microbianas comienza con la secreción de ácido clorhídrico y pepsina por parte del abomaso, que cumple una función similar al estómago de animales monogástricos en rumiantes. Luego en el duodeno se vierten las secreciones digestivas biliares y pancreáticas, las que, en unión con los jugos gástrico e intestinal, desdoblan los nutrientes de la ingesta en sus formas absorbibles (Church, 1974). Respecto a lo señalado anteriormente el mismo autor postula que, en la digestión a cargo de las enzimas digestivas juegan un papel importante las condiciones de pH imperantes en el intestino.

Lo mencionado anteriormente implica que los rumiantes dependen de la proteína microbiana y de la proteína suministrada en la dieta que escapa a la digestión en el rumen, para la obtención del aporte de los aminoácidos esenciales (Garriz y López., 2002).

Martínez (2002) señala algunas de las diferencias de la digestión enzimática de las proteínas entre monogástricos y rumiantes, la primera de ellas corresponde a que la cantidad de nitrógeno endógeno es importante en relación con el nitrógeno microbiano y alimentario. Otra disimilitud concierne a que el punto de máxima actividad de las proteasas pancreáticas se retrasa hasta el yeyuno medio, situándose aquí el punto de mayor absorción de aminoácidos. Por último, el ritmo de neutralización duodenal de la digesta es inferior a los monogástricos, lo que retrasa la actuación de las enzimas intestinales, pero permite que la proteólisis generada por la pepsina abomasal se mantenga en el duodeno. Al respecto, Lewis (1962) señala que en el caso del rumiante, la neutralización es más lenta, debido probablemente a las grandes cantidades de ácido clorhídrico secretadas con el jugo gástrico, como también a la menor alcalinidad y menor contenido de bicarbonato de las secreciones digestivas biliares y pancreáticas.

2.2 Tratamientos utilizados para reducir la degradabilidad ruminal de la proteína

Los concentrados proteicos tienen una alta susceptibilidad a la degradación ruminal (Vanhatalo *et al.*, 1995), que puede fluctuar entre 77% y 98% de degradabilidad en subproductos como la torta de raps (Tuncer y Sacakli, 2003) y ser mayor en granos de leguminosas, por ejemplo, 95,1% de degradabilidad en lupino (Cros *et al.*, 1992) y 91,6; 98,1 y 90,5% de degradabilidad en lupino, arvejas y porotos de soja, respectivamente (Solanas *et al.*, 2005). Por consiguiente, se hace necesario someterlos a distintos procesamientos, con el fin de disminuir la degradación ruminal y aumentar la cantidad de proteína sobrepasante, que llegará al intestino.

Generalmente, los concentrados son sometidos a diversos tipos de procesamientos durante la fabricación. En ocasiones, el tratamiento forma parte obligada del proceso de obtención de la materia prima, como ocurre con las tortas y semillas de oleaginosas (Guada, 1993).

Muchas veces la aplicación de temperatura se hace necesaria para la conservación y esterilización de productos perecederos, como en el caso de las harinas de carne y pescado. Cuando el tratamiento se lleva a cabo durante la fabricación de estos últimos, usualmente su objetivo es facilitar el mezclado de ingredientes, el manejo y la distribución del concentrado pero, independientemente del fin perseguido, la mayor parte de los tratamientos alteran, en mayor o menor grado, el valor nutritivo de las materias primas (Guada, 1993).

Casi la totalidad de los tratamientos a los que son sometidos los suplementos proteicos modifican su velocidad de degradación en el rumen y con ello la proporción de proteína que es digerida en este u otros tramos posteriores del tracto digestivo. Esto puede tener una importante incidencia en la eficiencia de utilización en la dieta y en la respuesta productiva del animal, dada la influencia que el lugar de digestión tiene sobre el tipo de nutrientes absorbidos (Thomas y Rook, 1981).

Algunos de los métodos de procesado de granos son; Trituración, Maceración y Extrusión (Guada, 1993). En leguminosas, el tratamiento más utilizado corresponde la extrusión (Mann, 2010) y se persigue principalmente aumentar la cantidad de proteína sobrepasante que llega al intestino como fuente complementaria a la proteína microbiana, esto se consigue gracias a que con la aplicación de temperatura ocurre una desnaturalización de la proteína, lo que conlleva a una disminución de la solubilidad de ésta y por lo tanto, se reduce su susceptibilidad a la degradabilidad ruminal (Chalmers y Synge, 1954). El postulado anterior difiere de la opinión de Church (1993), quien sostiene que cualquier tratamiento aplicado a un alimento, que genere cambios en su degradabilidad ruminal, también afectará de forma negativa la digestibilidad del mismo a nivel intestinal. Al respecto, Solanas *et al.*, (2005), señala que la extrusión húmeda permitiría disminuir la degradabilidad ruminal de la proteína cruda (PC) en alimentos proteicos de origen vegetal, sin disminuir la digestibilidad intestinal de la PC.

2.2.1 Extrusión

Dicho proceso consiste en hacer pasar a través de los agujeros de una matriz, la harina de estos productos a presión por medio de un tornillo sin fin que gira a cierta velocidad (Valls Porta, 1993), aplicándoles o no a la vez calor, por un período corto de tiempo (15 a 20 segundos), en un rango de 140 a 170°C. Dicha temperatura es generada por la fricción a baja presión, todo este procesamiento trae como consecuencia la expansión de los granos al salir del extrusor (Rokey, 1995). El mismo autor postula que, debido a los beneficios antes nombrados, este tratamiento se ha convertido en una importante herramienta para procesar alimentos, mejorar su digestibilidad y otros aspectos nutricionales.

El tratamiento de calor produce una desnaturalización parcial de la proteína y reacción de Maillard, haciendo a la proteína más resistente al ataque enzimático de microorganismos, y por consiguiente reduciendo su degradabilidad en el rumen (Solanas, 2008).

2.2.2 Reacción de Maillard

Corresponde a una glucosilación no enzimática de proteínas que ocurre al someter a altas temperaturas un alimento que contenga algunos compuestos nitrogenados en conjunto con azúcares, se produce una condensación de un grupo amino libre y de un grupo carbonilo de un azúcar reductor (Guada, 1993). Si el tratamiento térmico es moderado, se puede disminuir la degradación ruminal e incrementar la fracción de proteína no-degradable, sin afectar negativamente la digestibilidad intestinal (Gallardo, 2008). De lo contrario, si las temperaturas son excesivamente altas y aplicadas por períodos muy prolongados las proteínas cambian su configuración, lo que conduce a la formación de productos indigestibles disminuyendo significativamente la digestibilidad (Ramos, 2006).

2.3 Digestibilidad

El conocimiento del valor nutritivo de los alimentos es fundamental para la nutrición animal. No siendo suficiente con los análisis químicos, se debe considerar los efectos de los procesos de digestión, absorción y metabolismo animal (Bondi, 1989). Con el fin de analizar dicho valor alimenticio respecto a las necesidades de rumiantes, y estudiar de qué manera cubrir sus requerimientos por medio del suministro de suplementos, se realizan estimaciones sencillas de evaluación nutritiva de acuerdo al concepto de digestibilidad. Esta última puede definirse como la proporción de nutrientes en una dieta que presumiblemente son absorbidos por el animal (García *et al.*, 2009), o bien como la diferencia entre la cantidad de aminoácidos consumidos y los que son excretados en las heces (Latorre y Calderón, 1998).

La falta de datos empíricos sobre la digestibilidad intestinal de la proteína obliga a la adopción de un valor constante (80%) para todos los alimentos (NRC, 1989). Sin embargo, resultados de trabajos *in vivo* (Waltz *et al.*, 1989; Titgemeyer *et al.*, 1989), *in situ* (Hvelplund, 1985; Frydrych,

1992), e *in vitro* (Calsamiglia y Stern, 1995; Howie *et al.*, 1994; Yoon *et al.*, 1994) demostraron que existe una variación importante en la digestibilidad intestinal de las proteínas, no sólo entre suplementos proteicos, sino entre muestras distintas del mismo suplemento. Esta variación puede tener un impacto importante en la disponibilidad de proteína para el animal.

Por otra parte, las vacas lecheras que tienen una producción mayor o igual a 25 litros/día y los animales en engorda intensiva tienen altos requerimientos y su producción depende de que cierta cantidad de proteína de la dieta pase el rumen sin degradarse, además de la fuente de proteína microbiana dependiente de la energía disponible en rumen (Garriz y López, 2002).

La nutrición proteica del rumiante nos exige considerar simultáneamente dos tipos de necesidades: las de los microorganismos del rumen y las del animal *per se* (Astibia *et al.*, 1982).

La digestibilidad aparente es considerada como el balance entre el alimento consumido menos las heces (Martínez, 2002). La digestibilidad verdadera en cambio puede definirse como el balance entre la dieta y los residuos del alimento otorgado que escapan a la digestión y son recobrados en las heces, excluyendo los productos metabólicos (Castillo, 2007). Los valores de digestibilidad aparente son siempre menores a los coeficientes de digestibilidad verdadera (Lachmann y Araujo, 2009).

La digestibilidad puede ser medida tanto *in vivo* como, *in vitro*. En el primer caso se estima bajo cierto número de animales, mientras que en el segundo, se simula el proceso natural de digestión en laboratorio, habiendo complicaciones de tipo práctico en ambas (Rodríguez *et al.*, 2007). En el consumo de forrajes, la digestibilidad *in vivo*, se ve alterada por: la capacidad de selección del animal en función de la oferta de material, la disponibilidad de agua, la tasa de pasaje del alimento y la eficiencia metabólica animal (García *et al.*, 2009). También son consideradas las condiciones ambientales, haciendo que la técnica *in vitro* difícilmente pueda recrear las transformaciones que ocurren *in vivo*. Por estas razones, los coeficientes de digestibilidad solo son aparentes, pero de gran utilidad (Lachmann y Araujo, 2009). Las determinaciones de la

digestibilidad *in vivo* total, incluyendo la degradabilidad *in situ* o *in vivo* parcial, o de la bolsa de nylon son consideradas las más exactas. No obstante, es un proceso laborioso y costoso que requiere el empleo de altas cantidades de alimento, uso de alta mano de obra y la disposición de instalaciones para su cuidado. Por lo tanto, se han propuesto distintos métodos alternativos, entre ellos los procedimientos *in vitro* para la estimación de la digestibilidad, los que pueden realizarse cuando se dispone de pequeñas cantidades de muestra (Giraldo *et al.*, 2007).

Los métodos para determinar la digestibilidad *in vivo* se dividen en métodos directos e indirectos (Martínez, 2002).

El método directo más utilizado para la determinación del coeficiente de digestibilidad *in vivo* es el de colección total de heces (CTH) (García *et al.*, 2009). Este consiste en coleccionar todas las heces producidas por los animales durante la experimentación mediante bolsas sujetas al animal (Martínez, 2002). Sin embargo este método presenta como dificultad en animales de pastoreo o de potrero, que las heces son difíciles de manejar (Lachmann y Araujo, 2009).

Un método indirecto que presenta antecedentes de eficiencia como sistema de marcaje para estimar digestibilidad *in vivo* corresponde al uso de indicadores como óxido de cromo (García *et al.*, 2009). Los indicadores permiten tener referencias de aspectos físicos, como la tasa de pasaje o químicos, como hidrólisis y absorción, estimando cuantitativa y cualitativamente la información nutricional en sistemas donde la colección de heces se vuelve complicada (Lachmann y Araujo, 2009).

Al respecto, Carro (2001) señala que una de las formas más exactas de determinar con precisión la digestibilidad *in vivo* consiste en recoger la totalidad de los productos de la digestión que pasan por el duodeno mediante el empleo de cánulas reentrantes. Sin embargo, este tipo de cánulas no es muy utilizado, debido a que su implantación exige un doble corte en la pared del duodeno, lo que afecta a la inervación del intestino y a su motilidad. Dichas cánulas, se disponen en el intestino mediante una operación quirúrgica que permite situar un extremo al final del abomaso y

el otro en la zona proximal del duodeno. Para ello, se secciona el intestino, disponiendo los extremos cerca de la superficie de la piel, uniéndose mediante un tubo situado en la parte externa del animal (Cantalapiedra, 2009). Una vez colocado el tubo, los productos de la digestión fluyen con normalidad desde la porción proximal hasta la distal. Si se dispone de otra cánula en el extremo distal del íleon es posible conocer la cantidad de sustancias absorbidas en el intestino delgado (Sanz, 2001).

Una vez instaladas las cánulas, se recoge todo el flujo procedente del abomaso, se determina la cantidad total, se toman las muestras necesarias y se reintegra todo lo recogido para que prosiga su camino. La operación puede repetirse al final del íleon para obtener una nueva muestra (Carro, 2001). Dicha metodología no es utilizada en forma frecuente, debido a las presiones sociales, complejidad y alto costo que implica su empleo (Chamorro, 2003).

Una alternativa más simple de evaluar la digestibilidad a nivel intestinal consiste en el empleo de bioensayos con ratas, dicho animal se considera un modelo adecuado para investigaciones en nutrición y puede ser útil para la evaluación de alimentos para otras especies, permitiendo obtener resultados en forma rápida y a menor costo que con la utilización de la técnica descrita anteriormente (Barchiesi, 2011). En relación a la metodología antes mencionada, cabe señalar que, el empleo de ratas es menos cuestionado que el uso de otros animales como los rumiantes. Además las ratas tienen la ventaja de presentar un costo considerablemente menor, respecto a ovinos y bovinos, lo que permite realizar ensayos con un mayor número de repeticiones. Dentro de otras ventajas que presenta el empleo de este método se puede mencionar que debido al tamaño de los animales, hay un menor consumo de alimentos y requieren menos espacio (Barchiesi, 2011). Sin embargo, Malca *et al.*, (2006), advierte que la determinación de la digestibilidad en ratas presenta algunos inconvenientes como son el tiempo de ejecución del bioensayo y el manejo de los animales.

2.3.1 Determinación de la digestibilidad intestinal de alimentos.

La digestibilidad aparente puede ser medida mediante el siguiente coeficiente (Caravaca, 2003).

Coeficiente de digestibilidad aparente:

$$\text{CDA} = \frac{\text{Alimento ingerido} - \text{Materia fecal}}{\text{Alimento ingerido}} \times 100$$

Los valores estimados de digestibilidad ileal aparente de las fracciones correspondientes a proteínas y lípidos, sin incluir los aportes de compuestos endógenos de la misma naturaleza, son siempre menores a los coeficientes de digestibilidad ileal verdadera. El coeficiente de digestibilidad ileal aparente corresponde a la sustracción de la cantidad de N contenido en la ingesta y el nivel de este componente que queda en el íleon terminal (Hodgkinson, 2006). El empleo de dicho coeficiente no permitiría conocer el valor verdadero de digestibilidad, pues, según el mismo autor, durante la digestión de un alimento son secretados muchos compuestos nitrogenados hacia el tracto intestinal que alterarían dicha cuantía. Debido a esto, se considera un dato de gran utilidad al trabajar con rumiantes, que el aporte de nitrógeno endógeno se encuentra alrededor de 0,5 a 0,6 g por 100 g de materia seca consumida (aproximadamente un 4% de la proteína de la dieta), por lo que, los coeficientes de digestibilidad aparente en raciones con un contenido de proteína inferior al 4%, son negativos (Lachmann y Araujo, 2009).

Cabe mencionar que aun más imprecisa que la digestibilidad antes mencionada, resulta la digestibilidad fecal, que aunque es una técnica simple de realizar, presenta como inconveniente que el resultado obtenido podría ser impreciso. Pues, en el intestino grueso los residuos alimenticios se mezclan con los microorganismos presentes en esta parte del tracto digestivo, además, una proporción digestible de un nutrimento es modificada por las bacterias presentes en

él, observándose un cambio en el perfil de aminoácidos del contenido ileal con respecto al perfil en las heces (Moughan *et al.*, 1990).

En cuanto al coeficiente de digestibilidad de la proteína verdadera ileal, este puede ser complementado con la determinación de nitrógeno endógeno, que corresponde al N no dietario proveniente de mucus, células, enzimas digestivas y bilis. Este método permite determinar las pérdidas endógenas de N a nivel intestinal en animales que consumen una dieta que contiene péptidos (Hodgkinson *et al.*, 2000).

Para calcular la digestibilidad ileal verdadera (%) de N o AA se propone la siguiente fórmula:

Digestibilidad verdadera N o AA =

$$\frac{\text{N o AA dietario} - (\text{Flujo de N o AA ileal} - \text{flujo de N o AA endógeno}) \times 100}{\text{N o AA dietario}}$$

Los nuevos sistemas de formulación están incorporando valores de digestibilidad intestinal de proteínas específicos para cada alimento utilizando análisis químicos (Sniffen *et al.*, 1992) o la técnica de las bolsas móviles (INRA, 1989). Sin embargo, la dificultad de determinar la digestibilidad intestinal y la fiabilidad de los métodos disponibles sigue siendo el principal factor limitante para mejorar la formulación proteica de raciones para rumiantes.

2.4 Soya

El afrecho o torta de soya es la principal fuente de proteína vegetal a escala mundial, utilizada en la formulación de dietas tanto para monogástricos como para rumiantes.

En nuestro país, con el paso de los años, se ha generado un incremento constante de las importaciones de esta oleaginosa, de hecho según la balanza comercial de productos silvoagropecuarios 2011, generada por Odepa, se observó un aumento correspondiente a un 67% en la importación de soya, respecto al año 2010.

Respecto a lo planteado anteriormente, cabe comentar que Chile presenta un gran potencial para la producción de proteína vegetal a partir de granos proteicos cultivados en la zona sur. Además estos se convertirían en una rentable opción para ser incluidos en la rotación de cultivos, pues las leguminosas en sí, representan una atractiva opción para suplir este déficit, pues tienen la capacidad de fijar nitrógeno, convirtiéndose en excelentes candidatas para la mejora de suelos nacionales.

2.6 Arveja

Pisum sativum L., es una especie dicotiledónea anual, perteneciente a la familia Fabaceae, en la cual, *Pisum sativum* L. ssp. *sativum* var. *arvense* (L.) Poir, corresponde a una variedad cultivada fundamentalmente para la obtención de granos secos, los que pueden ser utilizados en alimentación humana o con fines forrajeros (Velasco, 2010).

Según el informe anual del Instituto Nacional de Estadísticas (INE), la superficie de arveja cultivada en el país muestra fluctuaciones en la cantidad de hectáreas sembradas año a año. Esto ocurre debido al bajo rendimiento que productores obtienen por hectárea y también a la

disminuida densidad de plantas que se solía utilizar por metro cuadrado. Así en la temporada agrícola 2006/2007 se produjo una disminución de la superficie sembrada a nivel nacional, respecto al inicio de la década. A pesar de lo que revelan las estadísticas, el panorama no es completamente desalentador para *Pisum sativum*, pues en los últimos años se han elaborado sistemas de producción modernos, que contemplan el uso de variedades áfilas y que permiten la utilización altas densidades, sobre 90 plantas por metro cuadrado, lo que ha permitido elevar significativamente los rendimientos. Una característica importante de las variedades áfilas es que son aptas para la cosecha directa con las automotrices utilizadas para el trigo, lo que en este momento permite tener un cultivo totalmente mecanizado (Velasco, 2010).

2.6 Lupino

Es una planta dicotiledónea anual, perteneciente a la familia Fabaceae. Las variedades silvestres contienen una cantidad relativamente alta de alcaloides, entre el 1 y el 4 %, por lo cual, son poseedoras de un fuerte sabor amargo y presentan un carácter definitivamente tóxico, estas características limitan su empleo como alimento en forma directa. No obstante, existen variedades “dulces” de lupino, con bajo contenido de alcaloides; del orden de 0,1% de las cuales, en Chile se cuenta con: *Lupinus albus L.*, variedades *Astra* y *Multolupa* y *Lupinus luteus*, variedades *Aurea* y *Aurea II* (Acuña, 2001). De acuerdo a las estadísticas del Instituto Nacional de Estadística (INE), la superficie anual sembrada con lupino (*Lupinus albus L.*), al igual que la de arveja, ha sufrido fluctuaciones, mostrando una importante disminución en la temporada 2008/2009, esto debido a la crisis que afectó al sector salmonero. La mayor superficie sembrada de lupino se concentra en la Región de La Araucanía, alcanzando en la temporada 2008/2009, 9.291 ha, representando un año más tarde el 1,2 % de las exportaciones regionales (INDAP, 2010). El principal uso del lupino se relaciona con la alimentación de animales rumiantes, especialmente bovinos, ya sea en forma de forraje verde o de grano introducido en la dieta como suplemento proteico. El lupino también se utiliza en la nutrición humana, aprovechando sus altos contenidos de proteína y aceite, y en menor medida, como abono verde (Banfi, 2009).

3 MATERIALES Y METODOS

3.1 Alimentos

Los ingredientes evaluados fueron: lupino descascarado (LD), lupino descascarado extruido (LDE), arveja (AR) y arveja extruida (ARE). El proceso de extrusión fue realizado con un equipo piloto perteneciente al Departamento de Ingeniería Química de la Universidad de La Frontera. Este correspondía a un extrusor de un tornillo Haake PolyDrive 0-120 Nm (Thermo Electron, Karlsruhe GmbH, Alemania), con una una relación de 25:1 entre longitud y diámetro de cañón, diámetro del cilindro interior de 19 mm, 3:1 relación de compresión del tornillo y una boquilla de salida con 3 mm de diámetro. El extrusor fue alimentado mecánicamente a 3,6 kg/h. Las condiciones de extrusión se establecieron a una temperatura que varió de acuerdo al tratamiento y la velocidad del tornillo fue de 80 rpm. El cañón poseía tres secciones con calentadores eléctricos controlados de forma independiente. Se distribuyó aire comprimido alrededor del barril para mantener un control preciso de la temperatura del barril y del montaje.

3.2 Obtención de los residuos

Para obtener la cantidad de residuo necesario para el desarrollo del bioensayo se incubaron bolsas que contenían los distintos ingredientes a evaluar en dos vacas lecheras Frisón Negro Chileno en lactancia, fistuladas con cánula ruminal, ubicadas en la estación experimental Maquehue. La instalación de las fistulas fue realizada con un mes de anticipación al ensayo. Las vacas se encontraban sometidas a una dieta compuesta por pastoreo de pradera permanente y concentrado comercial (4 kg/día). Se incorporaron aproximadamente 20 g. de cada alimento en bolsas de poliéster de 10 cm x 20 cm, las que fueron suspendidas en el rumen durante 16 h en partidas de 20 bolsas en cada vaca. Este proceso fue reiterado durante varios días con el fin de obtener

suficiente residuo para desarrollar el bioensayo de digestibilidad intestinal. Posteriormente a la incubación ruminal, las bolsas fueron lavadas con agua corriente fría y almacenadas a -20°C al menos por 24 h, para posteriormente ser descongeladas y lavadas exhaustivamente por 10 min en una lavadora semiautomática con agua fría. Luego fueron secadas en horno a 60°C durante 48 h y pesadas, con el fin de saber qué cantidad de alimento se digirió a nivel ruminal. Los residuos de cada alimento se mezclaron y almacenaron hasta realizar las determinaciones analíticas y los bioensayos con ratas.

3.3 Evaluación de la digestibilidad intestinal

Los residuos obtenidos tras la fermentación ruminal de LD, LDE, AR y ARE fueron usados como la única fuente de PC en la dieta que se les suministró a las ratas. Previo a los ensayos, el protocolo de trabajo fue aprobado por el Comité de Bioética de la Universidad de La Frontera, Temuco, Chile.

3.3.1 Animales y alimentos

Se emplearon cuatro dietas, las que constituyeron los tratamientos. La formulación de las dietas (Tabla 1) se realizó en concordancia con los requerimientos nutricionales para ratas de laboratorio (NRC, 1995). Con el propósito de calcular el flujo de digesta, se incorporó en las dietas óxido de cromo como marcador. En cada dieta se emplearon seis ratas Sprague-Dawley, las que fueron seleccionadas al azar y asignadas en forma aleatoria a cada una de los tratamientos. El peso promedio inicial fue de $246\text{g} (\pm 37)$.

3.3.2 Protocolo experimental y colección de digesta ileal

Las ratas fueron ubicadas en jaulas individuales diseñadas para evitar coprofagia. Éstas tuvieron libre acceso al agua en forma permanente. La temperatura de la sala fue mantenida a 21°C con ciclos de 12 h luz/oscuridad. Durante cinco días las ratas pasaron por un período de adaptación al sistema de alimentación horaria y a comer durante periodos cortos de tiempo, de modo de asegurar un flujo continuo de digesta. El acceso a la dieta fue de 10 minutos cada hora, durante 8 horas al día (comenzando a las 07:50 y finalizando a las 14:50 horas). Se ofrecieron 16 g/día de cada dieta de acuerdo a los requerimientos (NRC, 1995). Posterior a la etapa de adaptación, las dietas experimentales fueron suministradas durante cuatro días. Este periodo fue determinado por la disponibilidad de residuo ruminal de cada alimento a evaluar para formular la dieta de cada tratamiento. Los rechazos fueron pesados después de cada comida. El último día, las ratas fueron insensibilizadas con CO₂ y luego se les realizó una dislocación cervical, inmediatamente después se abrió la cavidad corporal, se localizó el intestino delgado y se realizó la disección de los 20 cm del íleon terminal. El tramo de íleon disectado se lavó con agua desionizada para remover sangre y pelos y secado cuidadosamente con papel absorbente. La digesta fue arrastrada suavemente inyectando desde la sección superior del íleon agua destilada desionizada con una piceta (Hodgkinson *et al.*, 2003). Las muestras fueron congeladas (-20 °C) inmediatamente después de la colección, liofilizadas y almacenadas (-20 °C) hasta realizar los análisis químicos.

Tabla 1. Ingredientes de las dietas experimentales (g).

Ingredientes	Dieta 1	Dieta 2	Dieta 3	Dieta 4
	LD	LDE	AR	ARE
Sucrosa	387	394	394	454
Almidón de maíz	108	128	129	110
Aceite de canola	36	36	36	36
Vitaminas-minerales	33	33	33	33
Oxido de Cromo	1,8	1,8	1,8	1,8
Residuo	154	124	123	88

LD= lupino descascarado; LDE= lupino descascarado extruido; AR=Arveja; ARE = Arveja extruida.

3.4 Análisis de laboratorio

En las muestras de alimentos, en los residuos ruminales y en la digesta ileal se analizó materia seca (MS) (AOAC, 1996, método 930.15), PC mediante un analizador LECO FP 528 basado en el método de DUMAS (AOAC, 1996). El contenido de óxido de cromo (Cr) de las dietas y de la digesta ileal se determinó mediante un espectrómetro de absorción atómica, de acuerdo al método descrito por (Fenton y Fenton, 1979). En los alimentos además se determinó extracto etéreo (EE) (AOAC, 1996, método 920.39) y fibra detergente neutro (FDN) (Van Soest *et al.*, 1991).

3.5 Cálculos y análisis estadísticos

El flujo ileal total y endógeno (dieta EHC) de N y AA a nivel del íleon terminal fue calculado usando la siguiente ecuación:

$$\text{Flujo de N o AA ileal } \mu\text{g/g MS} = \text{N o AA digesta ileal} \times \frac{\text{Cr en alimento}}{\text{Cr en digesta ileal}}$$

La digestibilidad ileal verdadera (%) de N o AA fue calculada como sigue:

Digestibilidad verdadera N o AA =

$$\frac{\text{N o AA dietario} - (\text{Flujo de N o AA ileal} - \text{flujo de N o AA endógeno}) \times 100}{\text{N o AA dietario}}$$

La composición química de los residuos post fermentación, de consumo, peso vivo y digestibilidad de la PC fueron analizados mediante ANDEVA de una vía. Se consideraron diferencias significativas con $P < 0,05$. En caso de presentarse significancia, las comparaciones de medias se realizaron con el test de Fisher. Los análisis estadísticos fueron realizados con el programa estadístico JMP, procedimiento GLM (SAS, 2009).

4 PRESENTACIÓN Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS

4.1 Composición química de los alimentos

En la Tabla 2 se presenta la composición química de los alimentos; lupino descascarado, lupino descascarado extruido, arveja y arveja extruida.

Tabla 2. Composición química de los alimentos.

	LD	LDE	AR	ARE
MS, %	91,4	93,4	90,1	92,9
PC, %	44,9	46,3	22,9	22,6
EE, %	8,4	5,6	0,8	0,8
FDN, %	8,4	6,2	32,6	30,9

LD= lupino descascarado; LDE= lupino descascarado extruido, 140°C/20% humedad; AR= arveja; ARE= arveja extruida, 140°C/20% humedad.

El contenido de proteína cruda del lupino, arrojado por los análisis químicos de los alimentos, fue mayor al 41,9% obtenido por Anrique *et al.*, (2008), esto podría deberse al mejoramiento genético de las variedades actuales. En cuanto a la arveja dicho valor coincidió con el obtenido por este autor.

Se observó una reducción en el contenido de FDN en los alimentos extruidos (lupino y arveja) respecto de los mismos sin extruir. Lo anterior ha sido reportado en lupino, en mezclas de arvejas con torta de raps extruidas, en maíz extruido y en torta de raps (Cros *et al.*, 1991; Chapoutot y Sauvant, 1997; Alvarado *et al.*, 2009; Barchiesi y Anrique, 2011). Esta reducción se debería a una despolimerización parcial de los polisacáridos de la pared celular, haciéndola más soluble al ácido y a las soluciones alcalinas utilizadas durante las determinaciones (Solanas *et al.*, 2005).

4.2 Composición química de los residuos de la incubación ruminal y de las dietas experimentales

En la Tabla 3 se presenta la composición química de los residuos de los alimentos después de 16 horas de incubación ruminal. Se observó un menor contenido de PC en el residuo de ARE ($P<0,05$) y una mayor concentración de PC en LDE ($P<0,05$), respecto de los mismos alimentos sin extruir. En el contenido de fibra (FDN), no se observó una tendencia clara en los residuos de los alimentos extruidos, en el caso de LDE se obtuvo un mayor porcentaje de FDN ($P<0,05$) que en LD, mientras que en AR el porcentaje de FDN fue inferior a ARE ($P<0,05$). Los bajos valores de FDN obtenidos en ambos alimentos sin extruir se deben a una mayor solubilidad de la fibra, respecto a los mismos alimentos extruidos.

En el caso de la AR, respecto a la ARE el resultado de la composición química podría deberse a un menor efecto del procesamiento en esta última, en relación al LDE, pues si la reacción de Maillard en un alimento es leve, no impediría la degradación en el rumen de una porción de la proteína (Barchiesi y Anrique, 2011). Por su parte el mayor porcentaje de PC observado en LDE respecto al mismo sin extruir luego de la fermentación ruminal se debe a que este último presentó una mayor degradabilidad ruminal.

Tabla 3. Composición química de los residuos después de 16 horas de incubación *in situ*.

	LD	LDE	AR	ARE
MS, %	92,4	91,8	94,0	94,2
PC, %	47,9	57,9	39,4	25,2
EE, %	9,4	14,0	9,9	1,6
FDN, %	16,9	34,4	29,9	39,2

LD= lupino descascarado; LDE= lupino descascarado extruido, 140°C/20% humedad; AR= arveja; ARE= arveja extruida, 140°C/20% humedad.

4.3 Digestibilidad ileal verdadera

En la Tabla 4 se presentan los valores de consumo de MS y de PC, peso promedio inicial y final de las ratas y los coeficientes de digestibilidad ileal aparente y digestibilidad ileal verdadera de los diferentes tratamientos. Las ratas permanecieron en buen estado de salud durante el desarrollo del ensayo.

El consumo de MS fluctuó entre 13,7 y 15,14 g/d. En todos los tratamientos hubo residuos por lo cual el consumo de PC fluctuó entre 1,16 y 1,40 g/d. Los cambios de peso vivo siguieron una tendencia similar entre los tratamientos, presentando todas las ratas una disminución de peso (3,3; 5,0; 5,8; 5,7% respectivamente). Todas las diferencias de peso resultaron estadísticamente significativas ($P < 0,05$). Tanto el consumo de MS como de PC en esta investigación superan los requerimientos de mantención presentados en NRC (1995), que establece que los requerimientos de mantención de PC en ratas Sprague-Dawley fluctuarían entre 5 y 7% de la dieta, requiriéndose entre 10 y 15 % MS para un máximo crecimiento. La disminución de peso vivo observado puede atribuirse a que el aporte de energía de las dietas debió ser inferior a los requerimientos, ya que las dietas fueron formuladas para ser isoproteicas, a partir de los residuos de la fermentación ruminal de los alimentos, generándose posiblemente algunas deficiencias en el aporte energético.

Tabla 4. Consumo de materia seca y de proteína cruda, peso promedio de ratas y digestibilidad ileal verdadera.

	Dieta 1	Dieta 2	Dieta 3	Dieta 4	ESM	P
	LD	LDE	AR	ARE		
Consumo MS, g/d	15,14a	14,53a	14,89b	13,7ab	0,22	*
Consumo PC, g/d	1,40a	1,37a	1,27b	1,16c	0,036	*
Peso promedio inicial, g	269,4a	217b	287 ^a	214b	7,64	*
Peso promedio final, g	260,4a	206b	270 ^a	202b	13,77	*
Digestibilidad ileal verdadera, %	79,28d	88,94b	85,12c	92,65a	1,88	*
Digestibilidad ileal aparente %	68,45a	69,13a	46,57c	53,05b	3,72	*

Letras distintas en una misma fila indican diferencias estadísticas significativas, test de Fisher. * $P < 0,05$; ns= no significativo. LD= lupino descascarado; LDE= lupino descascarado extruido, 140°C/20% humedad; AR= arveja; ARE= arveja extruida, 140°C/20% humedad.

Se evaluó el efecto de la extrusión en concentrados proteicos de origen vegetal que podrían ser utilizados en la formulación de raciones para rumiantes, como sustitutos del afrecho de soya, la cual sigue siendo la fuente proteica más utilizada para este fin, obteniéndose los siguientes resultados:

Los valores de digestibilidad ileal verdadera fueron mayores a los obtenidos en la medición de digestibilidad ileal aparente, debido a que estos últimos pueden ser afectados por las condiciones del ensayo, por lo tanto, son variables y están sujetos a error, (Moughan, 2003). La digestibilidad ileal verdadera fue mayor en los alimentos extruidos, respecto a los alimentos sin extruir (7,53% para arveja y 9,6% para lupino). Esto difiere de los resultados obtenidos por Solanas *et al.*, (2005), quien estudió la degradabilidad ruminal *in situ* y digestibilidad intestinal de la proteína de semillas de leguminosas crudas y extruidas respecto a los alimentos sin extruir, obteniendo un incremento de digestibilidad intestinal aparente de (44,7% en arveja y de 18,2% en lupino). Las diferencias observadas en ambos estudios pueden deberse a las condiciones de humedad y de presión utilizadas en el proceso de extrusión, ya que la temperatura utilizada en la extrusión en ambos fue la misma (140°C).

El alimento extruido que resultó porcentualmente más favorecido en cuanto al aumento de la digestibilidad intestinal, respecto al mismo sin extruir, corresponde al lupino. Este resultado difiere de los obtenidos en otros estudios que emplearon esta misma leguminosa como (Solanas, 2008), quien obtuvo un mayor aumento de digestibilidad en arveja. Esta diferencia se debería a que en dicha investigación se midió la digestibilidad aparente de la proteína cruda que resulta menos precisa que la medición de la digestibilidad ileal verdadera medida en este estudio. El método empleado en ese y en la mayor parte de las investigaciones en rumiantes, utiliza cánulas duodenales donde se introducen bolsas con residuos de alimentos digeridos en el rumen, siendo recolectadas las bolsas posteriormente en las fecas. Cuando se emplean muestras fecales para la determinación de digestibilidad, debe considerarse que en el intestino grueso la presencia de microorganismos que metabolizan los AA produce un cambio en el perfil de AA en la digesta, además de una posible contaminación bacteriana de los residuos, tal como ocurre a nivel ruminal. De ese modo, las bacterias del intestino grueso modifican tanto el perfil de AA de origen endógeno como exógeno (Barchiesi, 2011).

Otra razón a la que se puede atribuir las diferencias con otros autores, que obtuvieron un mayor incremento de la digestibilidad en arveja extruida respecto al lupino extruido, puede ser atribuida a que en la presente investigación se evaluó lupino descascarado a diferencia de los otros autores, que emplearon lupino con cáscara. La presencia de la fibra en la cáscara favorece la retención de humedad, lo que a su vez favorece las reacciones de Maillard durante el proceso de extrusión.

En relación a las diferencias entre resultados, Aguilera *et al.*, (1992), señala que pueden deberse a diferentes condiciones de procesamiento (temperatura y duración de procesamiento), a esto puede atribuirse la diferencia en los resultados, diferencias en la preparación de las muestras (tamaño de partícula) y en el procedimiento de las mediciones en el animal), además de las diferencias entre mediciones y entre especies de leguminosas. Respecto a lo anterior, cabe mencionar que Solanas *et al.*, (2008), también utilizó en su estudio una temperatura de extrusión de 140°C, no obstante, realizó dicho procesamiento con 10% de humedad.

Cabe mencionar que existen muy pocos estudios donde se mide la digestibilidad ileal verdadera en rumiantes, por lo que los resultados de esta investigación se tuvieron que comparar con trabajos donde se midió la digestibilidad aparente, a esto es atribuible las diferencias obtenidas en cuanto a la digestibilidad.

Respecto a lo anterior, los análisis estadísticos demuestran que la digestibilidad aparente fue mayor en ARE que en AR, lo que coincide con los valores obtenidos por (Solanas, 2005). Los valores de digestibilidad aparente son menores a los obtenidos en la digestibilidad ileal verdadera, esto coincide con lo señalado por Hodgkinson (2006), quien se indica que los valores estimados de digestibilidad aparente de las fracciones correspondientes a proteínas y lípidos, sin incluir los aportes de compuestos endógenos de la misma naturaleza, son siempre menores a los coeficientes de digestibilidad verdadera.

5 CONCLUSIONES

De acuerdo a los objetivos planteados se puede inferir que:

Se obtuvo un incremento de la digestibilidad ileal verdadera de la proteína cruda de arveja y lupino descascarado luego de someterlos al proceso de extrusión (7,53% y 9,6%, respectivamente), lo que convierte a dichas leguminosas en potenciales reemplazantes del afrecho de soya en la formulación de dietas para rumiantes.

Respecto de la arveja, se hace necesario el estudio de las combinaciones de temperatura y de humedad adecuadas durante la extrusión, para obtener una disminución de la degradabilidad ruminal y por lo tanto un mayor incremento de la digestibilidad ileal verdadera de la proteína de dicha leguminosa.

6 RESUMEN

El objetivo principal de la presente investigación fue evaluar la digestibilidad intestinal de la proteína cruda de alimentos proteicos de origen vegetal utilizados en la alimentación de rumiantes, y respecto a lo anterior, analizar el efecto del proceso de extrusión en disponibilidad y absorción de la proteína de dichos concentrados por parte del animal, con el fin de buscar una alternativa a la situación en la que se encuentran muchos productores nacionales, que se han visto sometidos a la problemática de que los concentrados proteicos que suministran a sus animales con el propósito de suplementar la alimentación en base a praderas, no cumplen con los requerimientos nutricionales de estos.

Se utilizó el modelo rata para evaluar la digestibilidad ileal verdadera de la proteína cruda (PC) de los residuos de los alimentos proteicos antes mencionados, obtenidos luego de ser sometidos a 16 horas de fermentación ruminal. Las ratas tuvieron libre acceso a las dietas durante 10 min cada hora durante 8 horas al día, por un periodo de 4 días. Se estudiaron 4 dietas, en las que la única fuente proteica fue la contenida en los residuos (PNDR) de Lupino descascarado (LD), lupino descascarado extruido (LDE), Arveja (AR) y Arveja extruida (ARE). Al culminar la fase experimental se tomaron muestras de digesta contenidas en el íleon terminal, en las que posteriormente se analizó el contenido de proteína cruda.

Los resultados obtenidos mostraron una disminución de peso vivo de todas las ratas, lo que puede atribuirse a algunas deficiencias en el aporte energético de las dietas experimentales.

En relación al consumo en todas las dietas hubo residuos y de las dietas que contenían alimentos sin extruir la que presentó un mayor consumo fue aquella formulada en base a lupino descascarado. Por su parte, de las que fueron formuladas en base a alimentos extruidos, la que presentó menor rechazo fue también la formulada en base a lupino.

Los valores de digestibilidad ileal verdadera de la proteína cruda fueron mayores en los alimentos extruidos, respecto a los sin extruir, lo que se manifestó en mayor proporción en el lupino, respecto a la arveja. Esto indica que el proceso de extrusión favorece el aumento de la cantidad de aminoácidos que son absorbidos y utilizados por el animal para cubrir sus requerimientos proteicos.

7 SUMMARY

The overall objective of this research was to evaluate the intestinal digestibility of crude protein of two legume seeds species (pea and lupine) used in ruminants feed, and analyze the effects of extrusion in amino acids absorption, in order to seek an alternative to the national cattle producers, which protein concentrates provided to their animals with the purpose of supplementing the pasture based diet, do not meet their nutritional requirements.

Rat model was used to assess the true ileal digestibility of crude protein in protein food residues mentioned above, obtained after being subjected to 16 hours of ruminal fermentation. The rats had free access to diets for 10 min every hour for 8 hours a day, during a period of 4 days. 4 diets were studied in which the only source of protein was contained in the waste of dehulled lupine, extruded dehulled lupine, peas and extruded pea. After experimental phase, digesta samples were obtained from terminal ileum, which were subsequently analyzed for crude protein content.

The results showed a decrease in live weight of all rats, which can be attributed to some deficiencies in the energy intake of the experimental diets.

In relation to consumption, in all diets there was waste and the most palatable of foods, with extrusion, were those made of lupine as protein source.

The true ileal digestibility values of crude protein were higher in extruded foods, which was manifested in a greater proportion on lupine, regarding pea. This means that the extrusion process conditions can increase the amount of absorbed and utilized amino acids by the animal to cover their protein requirements.

8 LITERATURA CITADA

Acuña, P. 2001. Estudio de prefactibilidad técnico económico para la obtención de hidrolizado de proteína vegetal a partir de lupino. Tesis Ingeniero Agrónomo. Universidad de La Frontera, Temuco, Chile.160p.

Agricultural Research Council (ARC). 1984. The Nutrient Requirements of ruminant Livestock Supplement no.1. Slough: C.A.B. London. 45p.

Aguilera, J.F., Bustos, M., Molina, E. 1992. The degradability of legume seed meals in the rumen: effect of heat treatment. *Anim. Feed Sci. Technol.* 36:101- 112

Alvarado, C., Anrique, R., and Navarrete, S. Effect of Including Extruded, Rolled or Ground Corn in Dairy Cow Diets Based on Direct Cut Grass Silage. *Chilean J. Agric. Res.* [online]. 2009, vol.69, n.3 [citado 2011-08-19], pp. 356-365

Anrique, R., Fuschlocher, R., Iraira, S., Saldaña, R. 2008. Composición de alimentos para el ganado bovino. Tercera Edición. Universidad Austral de Chile, Instituto de Investigaciones Agropecuarias, Consorcio Lechero. Valdivia, Chile. 87p.

Astibia, O., Cangiano, C., Cocimano, M., y Santini, F. 1982. Utilización del nitrógeno por el rumiante. *Rev. Arg. Prod. Anim.* 373-38 pp.

Aufrere, J., Graviou, D., Melcion, J., and Demarquilly, C. 2001. Degradation in the rumen of proteins of Lupin (*Lupinus albus*) and pea (*Pisum sativum* L) seed proteins: Effects of heat treatment. *Anim. Feed Sci. Technol.* 92:215-236

Banfi, S. 2009. Perspectivas para el lupino. 9p. Publicación ODEPA, doc. 2178.

Barchiesi, C. 2011. Degradabilidad ruminal y digestibilidad intestinal de suplementos proteicos procesados por extrusión húmeda. Tesis Doctoral. Universidad Austral de Chile, Valdivia, Chile.121p.

Barchiesi, C., and Anrique, R. Ruminal Degradability of Dry Matter and Crude Protein from Moist Dehulled Lupin and Extruded Rapeseed Meal. *Chilean J. Agric. Res.* [online]. 2011, vol.71, n.3 [citado 2011-08-19], pp. 430-436.

Bondi, A. 1989. *Nutrición Animal*. Editorial Acribia. Zaragoza, España. 571p.

Calsamiglia, M., Stern, M., y Yoon, I. 1994. Predicción del valor de los alimentos como fuentes de proteína en rumiantes. X curso de especialización FEDNA. 16p.

Calsamiglia, S., and Stern, M. 1995. A three-step in vitro procedure for estimating intestinal digestion of protein in ruminants *J.Anim. Sci* 73:1459-14-65.

Calsamiglia, S., Castillejos, L., y Busquet, M. 2005. Estrategias nutricionales para modificar la fermentación ruminal en vacuno lechero. XXI Curso de especialización FEDNA. 24p.

Cantalapiedra, G. 2009. Estudio de la utilización de nutrientes, de la fermentación y de las comunidades microbianas en el rumen de caprino y en fermentadores de flujo continuo simple. Efecto de la cantidad de concentrado en la dieta. Tesis doctoral. Universidad De Granada. España. 322p.

Caravaca, F., Castel, J., Guzmán, J., Delgado, M ., Mena, Y., Alcalde, M., González, P. 2003. *Bases De La Producción Animal*. Ed. Secretariado de Publicaciones de la Universidad de Sevilla y Servicio de Publicaciones de la Universidad de Córdoba. Sevilla. 512p.

Carro, M. 2001. La determinación de la síntesis de proteína microbiana en el rumen comparación entre marcadores microbianos (Revisión). Dpto. de Producción Animal I, Universidad de León, León. España.23p.

Castillo, F. 2007. Efecto de la interacción entre el tipo y nivel de forraje sobre el acondicionamiento de becerras para exportación. Tesis de Maestría. Universidad Autónoma de Chihuahua. Chihuahua. México.69p.

Chamorro, D. 2003. Importancia de la proteína en la nutrición de rumiantes con énfasis en la utilización de proteínas de especies arbóreas. Seminario-Taller Internacional sobre Manejo de La Proteína en Producción de Ganado Bovino. CORPOICA, Colombia.15p.

Chalmers, M., and Synge, R. 1954. Ruminal ammonia formation in relation to the protein requirement of sheep. II. Comparison of casein and herring-meal supplements. *J. Agr. Sci.* 44:263.

Chapoutot, P., and Sauvant, D. 1997. Nutritive value of raw and extruded pea-rapeseeds blends for ruminants. *Anim. Feed Sci. Technol.* 65:59-77.

Church, D.C. 1993. Fisiología digestiva y nutrición de los rumiantes. Ed. Acribia, Zaragoza, España. 146-204 pp.

Church, D.C. 1974. Fisiología digestiva y nutrición de los rumiantes. Vol. 2, Ed. Acribia, Zaragoza, España. 136- 139 pp.

Cros, P., Vernay, M., Bayourthe, C., and Moncoulon, R. 1992. Influence of extrusion on ruminal and intestinal disappearance of amino acids in whole horse bean. *J. of Anim Sci*, 359-366.pp.

De Witt Hepp, A. 1994. Elaboración de Extruidos a base de mezclas de Lupino-cereales. Universidad de Chile. Tesis Ingeniero Agrónomo. Universidad de Chile. Santiago. Chile. 70p

Díaz, A., Galindo, J., Bocourt, R., Laurencio, M., Perez, M. 2008. Los microorganismos del rumen y su papel en la fisiología digestiva del rumiante. Universidad de Matanzas Camilo Cienfuegos. Cuba. 25p.

Endres, M., and Stern, M. 1993. Effects of pH and diets containing various levels of lignosulfonate-treated soybean meal on microbial fermentation in continuous culture. *J. Dairy Sci.* (Suppl. 1):177.

Eliman, M., and Ørskov, E. Determination of rate of outflow of protein supplement from the rumen by measuring the rate of excretion of chromium treated protein supplements and polyethylene glycol in the faeces. *Anim. Prod.* 1981;32:386; abstract.

Escalona, R., Ramírez, P., Barzaga, G., De La Cruz, B., Maurenis, C. 2007. Intoxicación por urea en rumiantes. Dpto. Sanidad Animal. Facultad de Medicina Veterinaria. Universidad de Granma. Cuba. 4p.

Fenton, T., Fenton, M. 1979. An improved procedure for the determination of chromic oxide in feed and faeces. *CJAS*. 59: 631-634.

Flores, J. 2007. Efectos que producen las vitaminas, minerales y aminoácidos (hematófobos B12) sobre la producción láctea en vacas Holstein en dos fases de lactación. Tesis médico veterinario. Universidad Nacional De San Cristóbal De Huamanga, Ayacucho, Perú. 74p.

Frydrych, Z. 1992. Intestinal digestibility of rumen undegraded protein of various feeds as estimated by the mobile bag technique. *Anim. Feed Sci. Technol* 37, 161-172 pp.

Gallardo, M. 2008. Soja, harinas de extracción para la alimentación del ganado. Un análisis de las cualidades nutricionales de los diferentes tipos, de acuerdo al método de extracción utilizado. EEA Rafaela – INTA. 5p.

García, D., García, P., Gatica, F., Gatica, M., Gornall, V. 2009. Digestibilidad por el método del indicador en rumiantes. Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias, Universidad de Chile. Santiago. Chile. 9p.

Hendriks, W., Sritharan, K., and Hoodkinson, S. 2002. Comparison of the endogenous ileal and faecal aminoacid excretion in the dog (*Canis familiaris*) and the rat (*Rattus rattus*) determined under protein free feeding and peptide alimentation J. *Anim. Physiol. Anim. Nutr.* 86(9-10):333-341.

Hodgkinson, S., Souffrant, W., and Moughan, P. 2003. Comparison of the enzyme-hydrolyzed casein, guanidination, and isotope dilution methods for determining ileal endogenous protein flow in the growing rat and pig. *J. Animal Sci.* 81:2525-2534.

Hodgkinson, S. 2006. Evaluation of the quality of protein sources for inclusion in diets for monogastric animals. *Cien. Inv.Agr.* 33: 83-90.

Howie, S., Calsamiglia, S., and Stern, M. 1994. Variation in ruminal degradation and intestinal digestion of animal by product proteins. *Anim. Feed Sci. Technol.* 63:1-7.

Hvelplund, T. 1985. Digestibility of rumen microbial protein and undegraded dietary protein estimated in the small intestine of sheep and by in sacco procedure. *Acta Agric. Scand.*, 25 (Suppl.), 132–144.

INDAP. 2010. Productores de lupino finalizan con éxito experiencia de encadenamiento productivo. Disponible en <http://beta1.indap.cl>. Leído el 15 de Septiembre de 2011.

INE. 2007. Censo Agropecuario y Forestal 2007. Resultados por Comuna. Disponible en <http://www.ine.cl/>. Leído el 17 de septiembre de 2011.

Jarrige, R. 1989. Ruminant Nutrition. Recommended allowances and feed tables. INRA. John Libbey Eurotext Ed. London-Paris . 389 p.

Lachmann, M., y Araujo, F. 2009. La estimación de la digestibilidad en ensayos con rumiantes. La Universidad del Zulia. Facultad de Ciencias Veterinarias. Maracaibo, Venezuela. 21p.

Latorre, S., y Calderón, C. 1998. Evaluación fisiológica y nutricional del efecto de los taninos en los principales sorgos graníferos (*Sorghum bicolor (L) moench*) cultivados en Colombia. Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria. Regional 7. Bucaramanga. Colombia. 170p.

Lewis, D. 1962. Fisiología digestiva y nutrición de los rumiantes. Ed. Acribia, Zaragoza. España. Pag. 71.

Mann, H. 2010. El alimento balanceado: De fabricación en planta de alimentos al consumo en granjas. XXII Congreso Nacional De Avicultura. Panamá. 12p.

Malca, S. 2006. Comparación de dos técnicas para determinar la digestibilidad proteica de insumos y alimentos comerciales para caninos. Tesis Médico Veterinario. Universidad Nacional Mayor De San Marcos. Lima. Perú. 51 p.

- Martínez, A.** 2002. Necesidades proteicas y aportes de proteína en el ganado vacuno lechero. 20 p. 2002. Mundo Ganadero, Eumedia S.A., Madrid, N° 145, 147 y 148.
- Martínez, R.** 2002. Caracterización nutricional del Gandul (*Cajanus cajan*), basado en sus componentes químicos, desaparición in situ y cinética digestiva. 91p. Tesis de Maestría. Universidad de Colima. Colima. México.
- Mejía, J.** 2002. Consumo de forraje por rumiantes en pastoreo. Acta universitaria. Universidad de Guanajuato. Guanajuato. México. pp 53-63.
- Moughan, P., and Rutherford, S.** 1990. Endogenous flow of total lysine and other amino acids at the distal ileum of the proteinor peptide-fed rat: The chemical labelling of gelatin protein by transformation of lysine to homoarginine. J. Sci. Food Agric. 52:179-192.
- Moughan, P.** 2003. Amino acid availability: aspects of chemical analysis and bioassay methodology. *Nutr. Res. Rev.* 16:127-141.
- Navarro, H., Siebal, E., y Celis, S.** 2006. Manual de producción de leche para medianos y pequeños productores. Serie Remehue N° 148. Instituto de Investigaciones Agropecuarias, Centro de investigación regional Remehue, Osorno, Chile. 165p.
- NRC, 1995.** Nutrient Requirements of Laboratory Animals. National Academy Press Washington, 398 pp.
- NRC, 1989.** Nutrient Requirements of Dairy Cattle. Sixth revised edition. National Academy Press, Washington, D.C. 157p.
- ODEPA.** 2011. Balanza comercial de productos silvoagropecuarios. Avance mensual enero a agosto 2011. 26 p. Disponible en <http://www.odepa.gob.cl>. Leído el 15 de Septiembre de 2011.
- ODEPA.** 2011. Mercados Agropecuarios, Perspectivas del Lupino. 2011. 9 p. Disponible en <http://www.odepa.gob.cl>. Leído el 30 de Octubre de 2011.

Pulido, R., Balocchi, O., y Fernandez, J. Efecto del nivel de producción de leche sobre el comportamiento ingestivo en vacas lecheras en pastoreo primaveral. Arch. med. vet. [online]. 2001, vol.33, n.2 [citado 2011-08-19], pp. 137-144.

Ramos, E. 2006. Utilización de diversas leguminosas de grano en la producción de leche de cabra. Análisis de su valor nutritivo y calidad de leche producida. Editorial de la Universidad de Granada. Granada.176p.

Rodríguez, N., Simoes, E., y Guimaraes, R. 2007. Uso de indicadores para estimar consumo y digestibilidad de pasto. LIPE, lignina purificada y enriquecida. Universidad De Antioquia. Rev Col Cienc Pec 2007; 24:4.p.1-8.

Rokey, G. 1995. Tecnología de la extrusión e implicaciones nutricionales. XI Curso de Especialización FEDNA, Barcelona. 15p.

Sanz, R. 2001. Los alimentos de origen animal en la alimentación de los rumiantes. Facultad de Veterinaria UCM. Madrid, España. Disponible en <http://www.racve.es>. Leído el 14 de octubre de 2011.

Sarmiento, J. 2004. Sistema digestivo de rumiantes y aves. Disponible en <http://www.monografias.com>. Leído el 30 de agosto de 2011.

SAS Institute Inc. 2009. JMP 8 Design of Experiments, Cary, NC: SAS Institute Inc.

Schmölz, M. 2008. Comparación de los efectos productivos y metabólicos del uso de dos sustitutos lácteos comerciales en terneras criadas artificialmente. Memoria de título. Universidad Austral de Chile, Valdivia, Chile.36p.

Sniffen, C., O'Connor, J., Van Soest, P., Fox, D., and Russell, J. 1992. A net carbohydrate and protein system for evaluating cattle diets. II. Carbohydrate and protein availability. *J. Anim. Sci.* 70:3562-3577.

Solanas, E., Castrillo, C., Balcells, J., and Guada, J. (2005), *In situ* ruminal degradability and intestinal digestion of raw and extruded legume seeds and soya bean meal protein. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, 89: 166–171. doi: 10.1111/j.1439-0396.2005.00555.x

- Solanas, E., Castrillo, C., Jover M., and de Vega A.** 2008. Effect of extrusion on in situ ruminal protein degradability and in vitro digestibility of undegraded protein from different feedstuffs. *J. Sci. Food. Agric.* 88: 2589-2597.
- Tay, J., Vidal, A.** 2009. Sistemas de producción recomendados para canola, Lupino y arveja. 41p. INIA Quillamapu. NR36488 .
- Tice, E., Eastridge, M., and Firkins, J.** 1994. Raw soybeans and roasted soybeans of different particle sizes. 2. Fatty acid utilization by lactating cows. *J. Dairy Sci.* 77:166-180.
- Titgemeyer, E., Merchen, N., and Berger, L.** 1989. Effects of blood meal, fish meal, soybean meal or casein on rumen protein metabolism in lambs. *J. Anim. Sci.* 67, 262.
- Tuncer, S., and Sacakli, P .** 2003. Rumen degradability characteristics of xylose treated canola and soybean meals. Short communication. *Animal Feed Science and Technology* 107:211-218.
- Thomas, P ., and Rook, J.** 1981. Manipulation of rumen fermentation. In *Recent Developments in ruminant Nutrition*. Eds. W .Haresingn and D.J.A. cole. Butterworths, London.157- 183 pp.
- Van Soest, P., Robertson, J., Lewis, B.** 1991. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber and non-starch polysaccharides in relation to animal nutrition. *Journal of Dairy Science.* 74: 3583-3597.
- Valencia, D., Serrano, M., Jimenez, E., Lazaro, R., and Mateos. G.** 2009. Ileal digestibility of amino acids of pea protein concentrate and soya protein sources in broilers chicks. *Livestock Science.* Vol. 121, Issue 1, Pages 21-27
- Vanhatalo, A., Aronen, L., and Varvikko, T.** 1995. Intestinal nitrogen digestibility of heat-moisture treated rapeseed meals as assessed by the mobile bag method in cows. *Animal Feed Science and Technology* 55:139-152
- van Lier, E., Regueiro, M.** 2008. Digestión en retículo-rumen. Curso de Anatomía y Fisiología Animal, Dpto de Producción Animal y Pasturas, Universidad De La República. Montevideo, Uruguay. 28 p.

Valls porta, A. 1993. El proceso de extrusión en cereales y habas de soja i Efecto de la extrusión sobre la utilización de nutrientes. IX curso de especialización Fedna. Barcelona.8 p.

Velasco, R. 2010. Situación de mercado e importancia económica de la canola, lupino y arveja.11p. INIA Quilamapu. NR36489

Waltz, D y Stern, M. 1989. Evaluation of various methods for protecting soybean protein from degradation by rumen bacteria. *Anim. Feed Sci Technol.* 25: p. 111.

Yoon, I., Calsamiglia, S., Crooker, B., and Stern, M. 1994. Estimation of absorbable fish meal protein for ruminants. *J. Anim. Sci.* 72(Suppl. 1):386.