

DIGESTIBILIDAD Y CONTENIDO ENERGÉTICO DE ALIMENTOS CON NIVELES
CRECIENTES DE FIBRA PARA PERROS

Tesis de Maestría presentada en cumplimiento de los requisitos para el grado de
Magister en Ciencias Animales en la Facultad de Ciencias Agrarias de la Universidad
de Antioquia

Presentado por
Juan Camilo Duque Saldarriaga, Zoot.

Tutora: Sandra Lucía Posada Ochoa, Zoot., MSc., Dr.Sc.
Cotutor: Jorge Hernán Agudelo Trujillo, Zoot., MSc., PhD
Comité Tutorial: Luis Miguel Gómez Osorio, MVZ., MSc., cDr.Sc.

Maestría en Ciencias Animales
Facultad de Ciencias Agrarias
Universidad de Antioquia
Medellín, Colombia

2016

Agradecimientos

Quiero expresar un sentimiento de gratitud, admiración y respeto a mis mentores, la Dra. Sandra Lucía Posada Ochoa, el Dr. Jorge Hernán Agudelo Trujillo y el Dr. Luis Miguel Gómez Osorio, quienes con sus enseñanzas y disposición incondicional contribuyeron con mi crecimiento académico y profesional.

También quiero manifestar un profundo agradecimiento al Laboratorio de Investigación en Nutrición y Alimentación Animal (Nutrilab) de la Universidad de Antioquia y a su director el Dr. Ricardo Rosero Noguera, por su oportuna disposición para el uso de los equipos de laboratorio.

Adicionalmente, agradezco al Laboratorio de Metabolismo Animal de la Universidad de Antioquia por facilitar el acceso y la utilización de las jaulas metabólicas. Así mismo, al Laboratorio de Bromatología de la Universidad de Antioquia y a su director el Dr. Silvio Ayala, por su permanente apoyo con los equipos de laboratorio.

Igualmente, un sentido agradecimiento a la empresa Solla S.A., cuya contribución económica y operativa hizo posible la oportuna ejecución de éste proyecto. Gracias por disponer y proporcionar el Centro de Investigaciones Caninos, cuyos espacios, infraestructura, equipos de medición, recurso humano y recurso animal, permitieron el adecuado desarrollo del proyecto. Sin su conocimiento científico y técnico, el desarrollo de actividades de formulación y la elaboración de las dietas experimentales no hubiera logrado tal calidad.

Gratitud inmensa a Oliver Restrepo, Johan Gutiérrez, Jesús Arbeláez, Carlos Mario Sánchez y Uberley Castro, quienes con su experiencia y conocimiento en el manejo de los animales facilitaron la adecuada toma de las muestras.

Finalmente y, no menos importante, agradezco a mi familia, María José, Luis Guillermo, Luis Felipe, Andrés y Violeta, quienes con su apoyo constante, ejemplo y amor incondicional me acompañaron durante este camino. Sea esta una gran oportunidad para celebrar juntos este triunfo.

Tabla de contenido

Lista de tablas.....	6
Lista de Figuras.....	8
Lista de abreviaturas.....	9
Sumario	12
Digestibilidad y contenido energético de alimentos con niveles crecientes de fibra para perros	12
Resumen general.....	12
Capítulo 1	12
Capítulo 2	12
Capítulo 3	13
Abstract	13
Chapter 1.....	13
Chapter 2.....	13
Chapter 3.....	14
Introducción general	15
Bibliografía	19
Objetivos	24
Objetivo General	24
Objetivos Específicos.....	24
CAPÍTULO 1.	25
REVISIÓN DE LITERATURA	25
Assessment of energy content in dog foods: A review	25
Summary	25
Keywords.....	26
Resumen.....	26
Palabras claves	26
Introduction	26
Densidad energética.....	28
Fibra y energía.....	29
Fraccionamiento de la energía.....	35

Energía bruta (EB)	35
Energía digestible (ED)	36
Energía metabolizable (EM)	42
Energía neta (EN).....	45
Conclusiones	48
Bibliografía	49
CAPÍTULO 2.	58
Total Collection vs Indicator Method to determine apparent digestibility in dogs	58
Resumen.....	58
Palabras clave.....	59
Introducción	59
Materiales y Métodos	61
Animales y condiciones de alojamiento.....	61
Nutrición y alimentación	62
Descripción química del alimento	62
Suministro de indicador y marcador	64
Procedimiento de colecta y análisis químico de las heces.....	64
Determinación de la digestibilidad aparente	64
Análisis estadístico	65
Resultados	67
Peso corporal y estado de salud de los animales.....	67
Consumo de materia seca y de nutrientes.....	68
Recuperación fecal del indicador	68
Determinación de la digestibilidad aparente	69
Validación del método del indicador	70
Discusión	72
Consumo, peso corporal y estado de salud de los animales.	72
Recuperación del indicador.....	73
Digestibilidad aparente	74
Validación del método del indicador	76
Conclusiones	78
Bibliografía	79
CAPÍTULO 3.	85

Digestibility and energy content of dog food with increasing fiber levels.....	85
Resumen.....	85
Palabras clave.....	87
Introducción.....	87
Materiales y Métodos.....	88
Cuidado y salud animal.....	88
Animales y condiciones de alojamiento.....	89
Dietas experimentales y tratamientos.....	89
Consumo de materia seca y de nutrientes.....	89
Colecta de heces y orina.....	91
Análisis químico de heces y orina.....	92
Densidad energética predicha.....	93
Análisis de la información.....	93
Resultados.....	95
Peso corporal y estado de salud de los animales.....	95
Consumo de materia seca y de nutrientes.....	95
Digestibilidad aparente de los nutrientes.....	97
Balance energético.....	98
Valores de densidad energética observados y predichos.....	99
Discusión.....	102
Composición de los tratamientos experimentales.....	102
Peso corporal y estado de salud de los animales.....	103
Consumo de materia seca y de nutrientes.....	103
Digestibilidad aparente de los nutrientes.....	104
Balance energético.....	106
Valores de densidad energética observados y predichos.....	108
Conclusiones.....	109
Bibliografía.....	109
Conclusiones generales.....	118
Anexo 1.....	120

Lista de tablas

Capítulo 1

Nº	Nombre de la table	Página
Tabla 1.	Clasificación de la fibra en función de su velocidad de fermentación y solubilidad	32
Tabla 2.	Ecuaciones del NRC (2006) para predecir energía bruta (EB), energía digestible (ED) y energía metabolizable (EM) en alimentos para perros.	45
Tabla 3.	Predicción de la energía digestible y metabolizable (DE y ME, respectivamente) para perros mediante la ecuación del NRC (2006) comparado con otras aproximaciones matemáticas.	47

Capítulo 2

Nº	Nombre de la tabla	Página
Tabla 1.	Ingredientes y composición química analizada de la dieta.	63
Tabla 2.	Peso corporal y variables fisiológicas de las unidades experimentales.	67
Tabla 3.	Consumo de materia seca y de nutrientes en los diferentes períodos de colecta evaluados (MI3 a MI7)	68
Tabla 4.	Recuperación del indicador en las muestras fecales correspondientes a los diferentes períodos de colecta evaluados (MI3 a MI7)	69
Tabla 5.	Digestibilidad aparente de la materia seca (DMS), energía bruta (DEB), proteína cruda (DPC) y fibra cruda (DFC) determinadas por los métodos colecta total (CT) de heces y del indicador (MI)	69
Tabla 6.	Bondad de ajuste de la digestibilidad aparente determinada por el método del indicador (MI) vs. colecta total de heces	71

Capítulo 3

N°	Nombre de la table	Página
Tabla 1.	Ingredientes y composición analizada de las dietas experimentales.	90
Tabla 2.	Peso corporal y variables fisiológicas de las unidades experimentales.	95
Tabla 3.	Consumo de materia seca y de nutrientes en los diferentes tratamientos experimentales	96
Tabla 4.	Digestibilidad aparente de la materia seca y los nutrientes en los diferentes tratamientos experimentales.	97
Tabla 5.	Balance de energía en los diferentes tratamientos experimentales.	98
Tabla 6.	Estimadores de sesgo entre la densidad energética observada y la predicha	102

Lista de Figuras

Capítulo 3

N°	Nombre	Página
Figura 1.	Relación lineal entre el contenido de fibra del alimento (FC, FDN y FDT, expresado en porcentaje) y su densidad energética (ED, kcal/kg).	100
Figura 2.	Relación lineal entre las diferentes formas de analizar el contenido de fibra de los alimentos (FC, FDN y FDT, valores expresados en porcentaje).	101

Lista de abreviaturas

°C	Grados Centigrados
ATP	adenosine triphosphate
Ca	Calcio
Cal	Caloría
Cb	Exactitud de predicción
CCC	Coefficiente de correlación de concordancia
CCP	Coefficiente de correlación de Pearson
CEB	Consumo de EB
CED	Consumo de ED
CEM	Consumo de EM
CEB	Consumo de EB
CEM	Consumo de EM
CF	Crude fiber
cm	Centímetros
CMEP	Cuadrado medio del error de predicción
CP	Crude protein
Cr	Cromo
Cr ₂ O ₃	Chromium sesquioxide
CT	Colecta total
CV	Coefficiente de variación
d	Día
DA	Digestibilidad aparente
DE	Digestible energy
DEB	Digestibilidad de la energía bruta
DFC	Digestibilidad de la fibra cruda
DFC	Digestibilidad de la fibra cruda
DM	Dry matter
DMF	Diferencia en la magnitud de fluctuación
DMS	Digestibilidad de la materia seca
DP	Digestible protein
DPC	Digestibilidad de la proteína cruda

EB	Energía bruta
ED	Energía digestible
Ed	Digestibility energy
EE	Extracto etéreo
EB _f	Energía bruta en las heces
ELN	Extracto Libre de Nitrógeno
EM	Energía metabolizable
E _o	Pérdidas energéticas a través de la orina
EPAM	Error porcentual absoluto medio
EPR	Error de predicción relativo
E _u	Energy losses in the urine
E _o	Perdidas de energía en la orina
FC	Fibra Cruda
FDN	Fibra Detergente Neutro
FDT	Fibra Dietaria Total
g	gramo
GE	Gross energy
h	Hora
IM	Indicator Method
ing	Ingredients
JM	Jaulas metabólicas
k	Kilo
M	Mega
m	metro
ME	Metabolizable energy
MF	Materia fecal
mg	Miligramos
MI	Método del indicador
MI	Material inorgánico
MI3	Combinación de los 3 primeros d de muestreo
MI4	Combinación de los 4 primeros d de muestreo
MI5	Combinación de los 5 primeros d de muestreo

MI6	Combinación de los 6 primeros d de muestreo
MI7	Combinación de los 7 d de muestreo
MS	Materia seca
NEm	Net energy for maintenance
NEr	Retained net energy
NFE	Nitrogen free extract
NIRS	Near-infrared spectroscopy
OM	Organic matter
OMd	Digestibility of organic matter
P	Fósforo
PC	Proteína Cruda
R ²	Coeficiente de determinación
rd	Reference diet
RI	Recuperación del indicador
SM	sesgo medio
TC	Total Collection
td	Test diet
q	metabolicidad

Sumario

Digestibilidad y contenido energético de alimentos con niveles crecientes de fibra para perros

Resumen general

Capítulo 1

Este artículo revisa la estimación del contenido energético de los alimentos para perros, las metodologías para su estimación y los procedimientos experimentales disponibles para su cuantificación.

Capítulo 2

La colecta total de heces (CT) es el método de referencia para calcular la digestibilidad, siendo más laboriosa que el método del indicador (MI). En caninos no existe información sobre el número de días de muestreo requerido por el MI para obtener resultados comparables a la CT. El objetivo de éste capítulo fue comparar los resultados de DA obtenidos por CT y el MI variando el número de días de colecta. Fueron utilizados 11 perros Labrador Retriever que se alojaron en jaula metabólica. Se suministró óxido de cromo (Cr_2O_3) como indicador en el alimento. Se midió la digestibilidad de la MS, EB, PC y FC obtenida por CT (7 d) y se comparó con la DA obtenida por el MI obtenido a partir de combinaciones de los 3 (MI3), 4 (MI4), 5 (MI5) y 6 (MI6) primeros d de muestreo, o del período completo (MI7). La prueba t de Student no encontró diferencia en la DA de los nutrientes por CT y el MI para las combinaciones MI5, MI6 y MI7. Los criterios de bondad de ajuste indicaron que los mejores valores se obtuvieron para MI7. El MI para la DFC no fue un buen predictor. El análisis integral de los hallazgos del presente estudio (igualdad de medias, EPR, EPAM y CCC) conducen a recomendar el MI en reemplazo del método tradicional de CT, siempre y cuando las muestras fecales correspondan a 7 d de muestreo.

Capítulo 3

Conocer la EM evita cometer errores en el racionamiento del alimento, pero debido a la laboriosa determinación del contenido real de EM de los alimentos se utilizan ecuaciones de predicción que pueden no ser precisas. La fibra es uno de los factores que más influencia tiene en la densidad energética. Comercialmente, los alimentos para perros tienen entre 1 y 8% de FC, por lo cual difícilmente se podrían estimar correctamente sus valores de EM utilizando una misma ecuación. El objetivo fue determinar el efecto de la inclusión de niveles crecientes de fibra sobre la DA de los nutrientes y el contenido energético de alimentos para perros. Adicionalmente, determinar la precisión y exactitud de las ecuaciones de predicción de ED y EM disponibles en la literatura, en relación con su valoración directa. Fueron utilizados 8 machos Labrador Retriever. Cada periodo experimental tuvo 5 d de adaptación y 5 d de CT. Los tratamientos consistieron en cuatro alimentos con niveles crecientes de FC; 2, 4, 6 y 8% de la MS. La DA de la MS, EB, PC, EE, FC, FDN, FDT, ELN y MI junto con ED y EM fueron determinadas. Se observó que el incremento en los niveles de fibra no afectó en igual medida la digestibilidad de todos los nutrientes. Se concluye que las ecuaciones propuestas por el NRC (2006) realizaron una predicción satisfactoria del contenido de ED y EM.

Abstract

Chapter 1. This paper reviews the energy assessment of dog food, including common methodologies and experimental procedures.

Chapter 2. Total faecal collection (TC) is the standard method for calculating the digestibility, being more laborious than the indicator method (IM). There is no information in dogs about the number of days for sampling required for the MI to obtain comparable results with the TC. The aim of this chapter was to compare the results of DA obtained by TC and IM varying the number of days of collection. Eleven Labrador Retriever dogs were housed in metabolic cages. Chromium Oxide (Cr₂O₃) was provided as an indicator in the food. The digestibility of the MS, EB, PC and FC

obtained by CT (7d) was measured and compared with the DA obtained by MI combining the first 3 (MI3), 4 (MI4), 5 (MI5) and 6 (MI6) days of sampling or the full period (MI7). Student T test showed non difference in the DA of the nutrients by CT and MI for the MI5, MI6 y MI7 combinations. The goodness of fit criteria showed that the best values were found on MI7. The MI for DFC was not a good predictor. The comprehensive analysis of the findings for the present study (equal means, EPR, EPAM and CCC) lead to suggest the MI instead of the traditional method of CT, as long as faecal samples are taken for 7d.

Chapter 3. Knowing the EM may prevent mistakes in food rationing, but due to the laborious determination of the real EM content in the food, there are prediction equations used that may not be accurate. The dietary fibre is one of the factors that most influence on energy density. Commercially, dog foods have between 1 and 8% of CF, so it hardly could correctly estimate their EM values using the same equation. The aim was to determine the effect of the inclusion of the increasing levels of fibre on the DA of the nutrients and energy content of dog food. Additionally, determine the precision and accuracy of the prediction equations of DE and ME available in the literature regarding its direct assessment. There were used 8 male Labrador retriever dogs. Each experimental period was 5 adaptation d and 5 CT d. The treatments consisted in four foods with increasing levels of FC: 2, 4, 6 and 8% of DM. The digestibility of DM, GE, CP, EE, CF, FDN, FDT, NFE and MI as well as ED and EM were determined. It was observed that the increasing levels of fibre did not affect in the same way the digestibility in all the nutrients. It was conclude that the equations proposed by NRC (2006) conducted a satisfactory prediction of the ED and EM content.

Introducción general

El mercado de alimentos para perros está en aumento. Entre 2003 y 2013 tuvo un crecimiento del 22%, y se espera que para el 2017 se produzcan 23 millones de toneladas de alimento a nivel mundial entre todas las categorías de alimento seco balanceado (estándar, premium y superpremium) (Euromonitor, 2014). Este crecimiento se ve reflejado en un amplio portafolio de productos, que a su vez conlleva a que la digestibilidad y el contenido energético de los productos disponibles sea muy variable, fluctuando entre 70 y 90% y entre 2800 y 4050 Kcal/kg, respectivamente (NRC, 2006). El conocimiento de estos valores es importante para formular programas de alimentación mejor ajustados a los requerimientos nutricionales de las mascotas, dado que en contraste con los nutrientes, el contenido de energía en el alimento tiene un bajo rango de tolerancia para errores en su determinación debido a que una sub o sobrestimación puede llevar a una excesiva pérdida o ganancia de peso (Yamka et al., 2007; German, 2006; Case *et al.*, 2011).

En Colombia no se han desarrollado trabajos de investigación conducentes a la determinación de la digestibilidad y el contenido energético de los alimentos para mascotas, razón por la cual las empresas productoras de alimentos balanceados acuden a la utilización de ecuaciones para la formulación de raciones, con la imprecisión implícita en estas aproximaciones matemáticas. El método basado en el análisis proximal de los alimentos usando los factores propuesto por Atwater (Atwater, 1902) desconoce que la digestibilidad cambia en razón de los ingredientes empleados y la adición de enzimas exógenas. Atwater (1902) partió del supuesto que la digestibilidad de los carbohidratos, las grasas y las proteínas era 98, 96 y 90%, respectivamente (NRC, 2006). Los alimentos comerciales para mascotas usualmente presentan una digestibilidad para los principios energéticos menor al 90% (Kendall et al, 1982a, c; Kendall et al, 1985; NRC, 1986). Los factores de Atwater modificados (Atwater, 1910), que asumen una digestibilidad del 90% para las grasas, 85% para el extracto libre de nitrógeno (ELN) y 80% para las proteínas, son más coherentes con las dietas actuales y si bien son aceptados por AAFCO

(2014) y FEDIAF (2014), asumen valores de digestibilidad constantes para cada fracción analítica, lo que sistemáticamente subestima el contenido de EM de los alimentos bajos en fibra y viceversa (Kienzle, 2002).

Case et al., (2011) se refirió a la fibra dietaria como los polisacáridos no amiláceos. La fibra, a diferencia del almidón, resiste la digestión enzimática, por lo que no puede ser absorbida en el intestino delgado (NRC, 2006). El término fibra se refiere a un conjunto de compuestos clasificados como carbohidratos complejos, entre los que se incluyen celulosa, hemicelulosa, pectinas y gomas. Entre las cadenas de celulosa se forman puentes de hidrógeno, por lo cual esta fracción no es muy hidrosoluble (NRC, 2006). La mayor parte de la hemicelulosa también es hidrosoluble debido a la diversidad de su estructura y composición (Gross et al, 2000; Félix et al., 2012). Los alimentos que contienen fibra insoluble, de lenta fermentación, tienen menor digestibilidad de la MS (Gross et al., 2000) y promueven la sensación de saciedad con un menor consumo de calorías (Jewell y Toll, 1996). Es por esto que la fibra insoluble es común en las dietas formuladas para el control de peso en perros, para el tratamiento y la prevención del síndrome de colon irritable y la constipación (German, 2006). Por otro lado, las pectinas son hidrosolubles, forman geles viscosos y sufren fermentación rápida (Gross et al, 2000; NRC, 2006; Case et al., 2011). Las gomas tienen diferente viscosidad y solubilidad en agua y, por tanto, variables velocidades de fermentación, siendo la mayoría de fermentación moderada a rápida (Gross et al, 2000; NRC, 2006). Polisacáridos como los fructanos (inulina), galactanos, mananos, mucílagos y β -glucanos también se consideran fibra y se encuentran en pequeñas cantidades en los vegetales (Gross et al, 2000; Faber et al., 2011). Las fibras solubles tienden a ser convertidas rápidamente en ácidos grasos de cadena corta (AGCC) (Muir et al., 1996; Silvio et al., 2000), promueven la salud del colon (Twedt, 1993; Alabaster et al., 1996) y la función inmune. Sin embargo, los AGCC no constituyen una fuente de energía importante para los perros (menor del 5% del requerimiento de energía digestible) debido a que su tracto intestinal es corto y el tiempo de tránsito es breve (Brody, 1994).

La capacidad de retención de agua y la velocidad y grado de fermentación de la fibra determinan la fisiología digestiva y en esa medida la digestibilidad. Todas las fibras

retienen agua, pero las solubles tienen mayor capacidad de retención y pueden formar geles y soluciones viscosas dentro del tracto digestivo. Un aumento de la viscosidad puede retrasar la absorción de nutrientes, reducir la glucemia posprandial, retrasar el vaciado gástrico y reducir la interacción de las enzimas digestivas con el alimento. A medida que aumenta la velocidad de fermentación se disminuye el tiempo de tránsito intestinal y la excreción de ácidos biliares (Burrows et al., 1982; Fahey et al., 1990a). En tal sentido, la suplementación con fibra soluble y rápidamente fermentable debe hacerse de manera progresiva, ya que gracias a su capacidad para absorber agua puede tener un efecto laxante (Fahey, et al., 1992). Fahey et al. (1990a) evaluaron la digestibilidad de la materia seca (DMS) y de la materia orgánica (DMO) con diferentes fuentes de fibra, a saber, pulpa de remolacha y de tomate (moderada fermentación), cáscaras de cacahuete y salvado de trigo (lenta fermentación). La DMS y la DMO en todos los tratamientos incluyendo fibra fue menor que en el tratamiento testigo (DMS: 87.6 vs. 81.8%; DMO: 90.2 vs. 85.4%) que no contenía una fuente exógena de fibra, no obstante, los valores de digestibilidad fueron similares entre las fuentes de fibra

La lignina es un compuesto heterogéneo compuesto de derivados de fenilpropano que, sin bien no es un carbohidrato, integra la estructura de paredes celulares vegetales y es resistente a la acción enzimática de los mamíferos, por lo que se incluye dentro del término fibra (Case *et al.*, 2011). Los fuertes enlaces químicos que posee hace que también sea muy resistente a la digestión bacteriana (NRC, 2006).

Debido a los efectos anteriormente descritos, recientemente se han propuesto ecuaciones que estiman la digestibilidad aparente de la energía con base en el contenido de FC del alimento; no obstante, factores relacionados con la digestibilidad de la fibra y el procesamiento no son considerados (Castrillo et al., 2009). A nivel comercial, el contenido de fibra de los alimentos es muy variable, fluctuando entre 1 y 8%, siendo éste el nutriente que más disminuye la digestibilidad y el contenido energético de los alimentos. Además, el valor de FC no es un buen predictor del contenido de fibra real de un alimento; por tanto, esta aproximación puede generar sobreestimación del contenido energético en alimentos altos en fibra.

Van Soest (1973) indicó que la FC sólo cuantifica el 50- 80% de la celulosa, 10- 50% de la lignina y 20% de la hemicelulosa. En esa misma dirección Bartges y Anderson (1997) señalan que con la determinación de FC sólo se cuantifica entre el 5 y el 20% de la fibra total. Métodos más precisos para determinar la fibra como FDN (Van Soest; 1973) y FDT (Prosky et al. 1985) podrían hacer una mejor estimación del efecto de la fibra sobre la digestibilidad y la densidad energética.

El método de referencia para determinar la digestibilidad y el contenido de EM del alimento en cualquier especie animal se basa en el empleo de jaulas metabólicas para efectuar la colecta total (CT) de heces y de orina, lo cual constituye un procedimiento laborioso. Para superar esta limitante se propone la utilización de indicadores, como el óxido crómico, que permiten estimar de forma fiable la digestibilidad del alimento tomando sólo una muestra representativa de las heces (Agudelo et al., 2010). Otra limitante asociada con el empleo de jaulas metabólicas se refiere a la restricción del movimiento animal, lo cual afecta adversamente el bienestar (Broom and Molento, 2004). De acuerdo con Sabchuk, et al. (2012), los perros alimentados en el canil tienen mayor libertad para expresar su comportamiento natural. Reconociendo que el método de referencia (jaula metabólica) permite realizar un mejor control de las condiciones ambientales que pueden alterar los resultados experimentales (Sabchuk, et al., 2012), es necesario evaluar en que medida la digestibilidad determinada en canil y empleando marcador externo constituye una alternativa viable y estadísticamente equivalente con el método de referencia, información hasta la fecha no disponible.

La determinación de la digestibilidad y del contenido energético de los alimentos es de gran importancia en la nutrición animal, toda vez que define el aprovechamiento de la dieta por el animal. La digestibilidad permite valorar la calidad de la dieta y la disponibilidad de los nutrientes que la constituyen. Conocer la digestibilidad evita sub o sobrevalorar el valor nutritivo y así cometer errores en el racionamiento del alimento que puedan afectar adversamente la salud de los animales (Osorio-Carmona *et al.*, 2012). De otra parte, todos los procesos metabólicos involucran transferencia y gasto de energía. Debido a que el alimento es la única fuente de

energía para el animal, su valor nutritivo está en función de la densidad energética. Esta característica determina la cantidad de alimento que se le debe suministrar diariamente al animal y la concentración en que otros nutrientes (minerales, vitaminas) deben estar presentes para cubrir sus requerimientos.

Valorar adecuadamente el contenido energético y la digestibilidad de los alimentos le permitirá a las empresas fabricantes de alimentos determinar con mayor precisión las proporciones de ingredientes dentro de la formulación y el porcentaje de nutrientes que es compatible con el estilo de vida y la salud del animal. Adicionalmente, los propietarios de mascotas podrán ser mejor informados de la oferta diaria de alimento para los perros, según el tipo de producto adquirido. Realizar una valoración cuantitativa de la digestibilidad y el contenido energético le dará un mayor valor agregado a los productos finales y le brindará mayores herramientas a los propietarios al momento de seleccionar el alimento a garantizar, máxime en un mercado donde la oferta de productos de origen nacional e internacional es creciente y donde los costos asociados con la alimentación son elevados.

Bibliografía

AAFCO. 2014. Association of American Feed Control Officials. Official Publication. Dog and cat nutrient profiles. Atlanta, GA. 87 pp.

Agudelo, J.H.; Lindemann, M.D. and Cromwell, G.L. 2010. A comparison of two methods to assess nutrient digestibility in pigs. *Livestock Science*. 133: 74–77.

Alabaster, O.; Tang, Z. and Shivapurkar, N. 1996. Dietary fiber and the chemopreventive modelation of colon carcinogenesis. *Mutat Res*. 350(1):185-97.

Atwater, W.O. 1902. Principles of nutrition and nutritive value of foods. *Farmer's Bulletin*, 142 pp.

Atwater, W.O. 1910. Principles of nutrition and nutritive value of foods. Washington, D.C.: U.S. Department of Agriculture. Farmer's Bulletin, 142 pp.

Bartges, J. and Anderson, W.H. 1997. Dietary fiber. Vet Clin. Nutr. 4: 25-28.

Brody, T.D. 1994. Regulation of energy metabolism. In: Nutritional Biochemistry. San Diego, CA: Academic Press Inc 125-220

Broom, D.M. and Molento, C.F. 2004. Bem estar animal: Conceito e questões relacionadas. Archives of Veterinary Science. 9: 1-11.

Burrows, C.F.; Kronfeld, D.F.; Banta, C.A. and Merritt. A.M. 1982. Effects of fiber on digestibility and transit time in dogs. J. Nutr. 112:1726–1732.

Case, L.P.; Daristotle, L.; Hayek, M.G. and Raasch, M.F. 2011. Canines and feline nutrition, 3rd Edition. USA: Mosby Elsevier.

Castrillo, C.; Hervera, M. and Baucells, M.D. 2009. Methods for predicting the energy value of pet foods. R. Bras. Zootec. 38: 1-14.

Euromonitor. 2014. The petfood report: Petfood Industry. URL: <http://www.euromonitor.com/dog-food>

Faber, T. A.; Hopkins, A. C.; Middelbos, I. S.; Price, N. P. and Fahey, Jr.G. C. 2011. Galactoglucomannan oligosaccharide supplementation affects nutrient digestibility, fermentation end-product production, and large bowel microbiota of the dog. Journal of animal science. 89:103-112.

Fahey, Jr.G.C.; Merchen N.R.; Corbin J. E.; Hamilton, A.K.; Serbe, K.A.; and Hirakawa, D.A. 1990a. Dietary fiber for dogs: II. Iso-total dietary fiber (TDF) additions of divergent fiber sources to dog diets and their effects on nutrient intake, digestibility,

metabolizable energy and digesta mean retention time. *Journal of animal science* 68:4229-4235.

Fahey, G. C., Jr., N. R. Merchen, J. E. Corbin, A. K. Hamilton, K. A., Bauer, L.L. Titgemeyer, E.C. and Hirakawa, D.A. 1992. Dietary fiber for dogs: III. Effects of beet pulp and oat fiber additions to dog diets on nutrient intake, digestibility, metabolizable energy, and digesta mean retention time. *Journal of animal science*. 70:1169-1174.

FEDIAF. 2014. European Pet Food Industry Federation. Nutritional Guidelines for Complete and Complementary Pet Food for Cats and Dogs. Bruxelles, Belgium. 41-44 pp.

Félix, A. P.; Gabeloni, L. R.; Brito, C.B.M.; Oliveira, S. G.; Silva, A. V. F. and Maiorka, A. 2012. Effect of b-mannanase on the digestibility of diets with different protein sources in dogs determined by different methodologies. *Journal of Animal Science*. 90:3060-3067.

German, A. J. 2006. The growing problem of obesity in dogs and cats. *The Journal of nutrition*. 136(7): 1940S-1946S.

Gross KL, Wedekind KJ, Cowell CS, Shoenherr WD, Jewell DE, Zincker SC, Debraekeleer J, Frey RA. 2000. *Small Animal Clinical Nutrition*. Mark Morris Institute. 2: 48-55

Jewell, D.E. and Toll, P.W. 1996. Effect of fiber on food intake in dogs. *Veterinary Clinical Nutrition*. 3: 115-118

Kendall, P.T.; Burguer, I.H. and Smith, P.M. 1985. Methods of estimation of the metabolizable energy content of cat foods. *Feline Practice*. 15(2): 38-44.

Kendall, P.T.; Smith, P.M. and Holme, D.W. 1982. Factors affecting digestibility and in-vivo energy content of cat foods. *Journal of Small Animal Practice*. 23: 538-554.

Kienzle, E. 2002. Further developments in the prediction of metabolizable energy (ME) in pet food. American Society for Nutritional Sciences. *J. Nutr.* 132: 1796S–1798S.

Muir, H. E.; Murray, S.M.; Fahey, Jr. G.C.; Merchen, N.R. and Reinhart. G. A. 1996. Nutrient digestion by ileal cannulated dogs as affected by dietary fibers with various fermentation characteristics. *J. Anim. Sci.* 74:1641–1648.

NRC - National Research Council. 1986. Nutrient requirements of cats. Washington, DC. National Academy of Science, National Academy Press.

NRC - National Research Council. 2006. Nutrient Requirements of dogs and cats. Washington, DC: The National Academies Press.

Osorio-Carmona Esteban, Giraldo-Carmona John, Narváez-Solarte William. 2012. Metodologías para determinar la digestibilidad de los alimentos utilizados en la alimentación canina. *vet.zootec.* 6(1): 87-97.

Prosky, L.; Asp, N.G.; Furda, I.; Devries, J.W.; Schweizer, T.F. and Harland, B. 1985. The determination of total dietary fiber in foods, food products: collaborative study. *J. Assoc. Off. Anal. Chem.* 68: 677–679.

Sabchuk, T.T.; Portella A.; Grigoletto, J.; Guimarães, L.; Gisele de Oliveira, S. and Maiorka, A. 2012. Digestibility and behavior of dogs housed in kennels or metabolic cages. *R. Bras. Zootec.* 41: 118-122.

Silvio, J., D. L. Harmon, K. L. Gross, and K. R. McLeod. 2000. Influence of fiber fermentability on nutrient digestion in the dog. *Nutrition* 16:289–295.

Twedt, D.C. 1993. Dietary fiber in gastrointestinal disease. In: Proceedings. Eleventh Annual Veterinary Medical Forum.

Yamka, R.M.; McLeod, K.R.; Harmon, D.L.; Freetly, H.C. and Schoenherr, W.D. 2007. The impact of dietary protein source on observed and predicted metabolizable energy of dry extruded dog foods. *J. Anim. Sci.* 2007. 85:204–212.

Van Soest, P.J. 1973. The uniformity and nutritive availability of cellulose, *Fed Proc.* 32: 1804-1808.

Objetivos

Objetivo General

Determinar la digestibilidad fecal aparente y el contenido energético de alimentos con niveles crecientes de fibra para perros.

Objetivos Específicos

1. Comparar los resultados de DA obtenidos por CT y el MI variando el número de días de colecta fecal.
2. Determinar el efecto de la inclusión de niveles crecientes de fibra sobre la DA de los nutrientes y el contenido energético de alimentos para perros.
3. Determinar la exactitud de las ecuaciones de predicción de la energía digestible y metabolizable, en relación con su valoración directa en jaula metabólica.

CAPÍTULO 1.

Este manuscrito corresponde a una Revisión de literatura sometida a la Revista Archivos de Zootecnia el 05/oct/2015, la cual fue aceptada con correcciones menores el 14 de abril del 2016 (Anexo 1).

REVISIÓN DE LITERATURA

Assessment of energy content in dog foods: A review

Estimación del contenido energético en alimentos para perros: Revisión de literatura

Duque-Saldarriaga, J.C.^{1,2*}; S.L. Posada-Ochoa² and J.H. Agudelo-Trujillo².

¹Research and Development Department, Nutri-Solla Group, Solla SA. Carrera 42
No. 33-80 Itagui, Colombia.

²Research Group in Agricultural Sciences (GRICA), Faculty of Agricultural Sciences,
Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia.

S.L. Posada-Ochoa e-mail: slposada@gmail.com

J.H. Agudelo-Trujillo e-mail: jorgehat@gmail.com

*Corresponding author: Duque-Saldarriaga, J.C. Phone: (574) 4448411, extension
2266. e-mail: juancd2015@gmail.com

Summary

Animals can regulate food intake to meet their energy demands, so the nutritional composition of the diet should be balanced with its energy density to avoid over- or under-nutrition situations. The dog food market is registering significant growth, which

is reflected in a broad portfolio of products with varied energy levels; however, true quantification of their energy value is unknown. Energy needs for dogs are commonly expressed as metabolizable energy, which is estimated with mathematical approaches (indirect estimation) or determined through digestibility and metabolism trials (direct estimation). This paper reviews the energy assessment of dog food, including common methodologies and experimental procedures.

Keywords: Canines, digestibility, energy density, metabolicity.

Resumen

Los animales son capaces de regular la ingesta de alimento para satisfacer sus demandas energéticas, por lo tanto la composición nutricional de la dieta debe estar equilibrada con su densidad energética, para evitar situaciones de sobre o subnutrición. El mercado de alimentos para perros viene registrando un crecimiento significativo, el cual se refleja en un amplio portafolio de productos con diferentes valores energéticos; sin embargo, no se conoce la cantidad real de su contenido energético. Las necesidades de energía de los perros se expresan en unidades de energía metabolizable, la cual se estima a partir de aproximaciones matemáticas (estimación indirecta) o se determina mediante pruebas de digestibilidad y metabolismo (estimación directa). Este artículo revisa la estimación del contenido energético de los alimentos para perros, las metodologías para su estimación y los procedimientos experimentales disponibles para su cuantificación.

Palabras claves: Densidad energética, digestibilidad, metabolicidad, caninos.

Introduction

Los procedimientos de laboratorio permiten fraccionar los alimentos en sus componentes, a saber, proteínas, lípidos, carbohidratos, minerales y vitaminas, los cuales pueden ser aislados y pesados. Sin embargo la energía requiere una

diferente aproximación (Pond et al., 2005). La energía no tiene una masa ni una dimensión mensurable, pero la energía química contenida en los alimentos es finalmente convertida en calor, el cual puede ser cuantificado (Case et al., 2011). El animal obtiene la energía por la oxidación parcial o completa de las moléculas orgánicas absorbidas de la dieta o desde el metabolismo de la energía almacenada en forma de grasa, proteína y carbohidratos. La transferencia de energía desde una reacción química a otra ocurre principalmente por medio de enlaces de alta energía, adenosina trifosfato - ATP y otros compuestos relacionados (Pond et al., 2005).

La determinación del contenido energético de los alimentos es de gran importancia en la nutrición animal, pues todos los procesos metabólicos involucran transferencia y gasto de energía. La energía es necesaria para que tenga lugar el mantenimiento y la síntesis de los tejidos orgánicos, la actividad física y la regulación de la temperatura corporal. Teniendo en cuenta su importancia, no es sorprendente que la energía sea siempre la primera demanda satisfecha por la dieta de un animal. Con independencia de las necesidades que los perros tengan de aminoácidos esenciales procedentes de las proteínas dietéticas, o de ácidos grasos esenciales procedentes de los lípidos dietéticos, los nutrientes energéticos de la dieta se utilizarán, en primer lugar, para satisfacer las demandas de energía. Una vez satisfechas estas demandas, los nutrientes restantes se emplean para otras funciones (Case et al., 2011).

La tendencia creciente y generalizada para adquirir perros se refleja en el notable crecimiento de su mercado de alimentos. De 1998 a 2010 el número de perros en 50 países aumentó un 25% (Serisier et al., 2013).

Este crecimiento se ha visto reflejado en un amplio portafolio de productos, cuya segmentación en el mercado obedece a su densidad nutricional y digestibilidad. De acuerdo con el NRC (2006), la densidad energética de los alimentos secos para los perros puede variar entre 2800 y 4050 kcal de energía metabolizable (EM)/kg en función de los ingredientes utilizados, los métodos de procesamiento y la introducción de aditivos que mejoren su aprovechamiento nutricional. Este trabajo

pretende revisar aspectos relacionados con la valoración energética de los alimentos para los perros, su importancia, fraccionamiento, las aproximaciones matemáticas disponibles para su cuantificación y las metodologías disponibles para su determinación.

Densidad energética

El valor nutritivo está en función de la densidad energética, definida como el número de calorías proporcionadas por unidad de peso. Esta característica determina la cantidad de alimento consumido por el animal, toda vez que éste es capaz de regular la ingestión para satisfacer sus demandas energéticas, que dependen de la raza, peso, edad, sexo, condición sexual (castrado, entero) y nivel de actividad (Sallander et al., 2010; Bermingham et al., 2014).

En este sentido, la densidad energética del alimento debe ser adecuada para que el animal lo consuma en suficiente cantidad. Si la densidad energética es demasiado baja, el consumo estará restringido por las limitaciones físicas del tracto gastrointestinal, ocasionando una deficiencia de energía. No obstante, la situación contraria se origina por la actual competencia del mercado de alimentos para animales de compañía, existiendo un gran número de productos muy palatables y con alta densidad energética, que contrarresta la capacidad que tienen los perros de regular su ingesta energética, circunstancia que sumada al sedentarismo viene originando problemas de sobrepeso y obesidad, de gran incidencia y prevalencia a nivel mundial (German, 2006; Sallander et al., 2010), entre 24 y 59% (Hodgkinson et al., 2008; Larsson et al., 2014). A ello se le suma que los propietarios tienden a seleccionar los alimentos comerciales que se consumen rápidamente, sin considerar que tan adecuado resulta nutricionalmente para la mascota, y este tipo de alimentos generalmente son de elevado contenido energético. En definitiva, alimentos con muy alta o baja densidad energética pueden originar un desequilibrio energético que resulta en alteración de la tasa de crecimiento, el peso y la composición corporal (Case et al., 2011).

Debido a que el consumo de alimento de un animal es regulado por la ingestión energética total, es preciso que la composición del resto de nutrientes de la dieta esté equilibrada con respecto a la densidad energética. Esto es, la densidad energética determina las proporciones en que otros nutrientes como aminoácidos, carbohidratos, ácidos grasos, minerales y vitaminas deben estar presentes para cubrir sus requerimientos. Por esta razón, es más apropiado expresar los niveles de los nutrientes energéticos en términos de concentración de energía, en vez de hacerlo en términos de porcentaje de peso del alimento. Utilizando esta unidad, pueden compararse los valores de cualquier tipo de alimento, con independencia del contenido de agua, nutrientes o energía (Case et al., 2011).

Valorar adecuadamente el contenido energético de los alimentos le permite a las empresas fabricantes de alimentos determinar con mayor precisión las proporciones de ingredientes dentro de la formulación y el porcentaje de nutrientes que es compatible con el estilo de vida y la salud del animal. Adicionalmente, los propietarios pueden ser mejor informados de la oferta diaria de alimento que deben recibir los perros, según el tipo de producto adquirido. Desconocer la densidad energética de los alimentos conduce a una subestimación o sobreestimación de la cantidad de alimento que deben recibir los animales respecto a su requerimiento, lo cual fue evidenciado en el 80% de los casos en el trabajo conducido por Hodgkinson et al. (2008). Realizar una valoración del contenido energético le otorga mayor valor agregado a los productos finales y le brinda mayores herramientas a los propietarios al momento de seleccionar el alimento a garantizar, máxime en un mercado donde la oferta de productos de origen nacional e internacional es creciente y donde los costos asociados con la alimentación son elevados.

Fibra y energía.

La definición de la fibra ha sido sujeto de debate, desde los inicios en Trowell (1972) la definió como el grupo de componentes de la pared celular vegetal que son resistentes a la digestión por enzimas gastrointestinales humanas. El término fibra se

refiere a un conjunto de compuestos clasificados como carbohidratos complejos, en donde se incluyen hemicelulosa, celulosa, cutinas, ceras, gomas, mucilagos y pectinas. Recientemente Case et al., (2011) se refirió a la fibra dietaria como los polisacáridos no amiláceos. La fibra a diferencia de otros carbohidratos complejos, como los almidones, resiste la digestión enzimática, por lo que no puede ser absorbida en el intestino delgado pero si puede ser parcialmente fermentada por los microorganismos del colon (NRC, 2006).

Clasificación de la fibra. La fibra dietaria puede clasificarse de acuerdo a su estructura química. La celulosa es un polisacárido de unidades de glucosa con enlaces β 1,4 que solo pueden romper las enzimas microbianas. Los vegetales forman puentes de hidrógeno entre las cadenas de celulosa generando unos agregados ordenados y compactos llamados fibrillas, que a su vez tienen una región cristalina y una amorfa. La celulosa no es muy hidrosoluble, pero puede tener una elevada capacidad de retener agua y sufre fermentación lenta por la microbiota del colon (NRC, 2006).

La hemicelulosa es polímero heterogéneo que está compuesto por glucosa, galactosa, manosa, xilosa, arabinosa y ácido urónico en diferentes combinaciones y diversos enlaces. La mayor parte de la hemicelulosa no es hidrosoluble debido a la diversidad de su estructura y composición (Gross et al, 2000; Félix et al., 2012).

Las pectinas son una cadena lineal de ácido galacturónico con enlaces glucosídicos α 1,4 presentes en las paredes celulares y zonas intracelulares de los vegetales. La cadena de ácido galacturónico de la mayoría de las pectinas está interrumpida por otros carbohidratos como galactosa, arabinosa y ramnosa que permiten la formación de la cadena ramificada. Las pectinas son hidrosolubles, forman geles viscosos y sufren fermentación rápida por las bacterias intestinales (Gross et al, 2000; NRC, 2006; Case et al., 2011).

Las gomas son un grupo variado de polisacáridos viscosos y pegajosos presentes en semillas y exudados de los vegetales. Tienen diferente viscosidad, solubilidad en agua y, por tanto, variable velocidad de fermentación, siendo la mayoría de fermentación moderada a rápida (Gross et al, 2000; NRC, 2006).

La lignina es un compuesto heterogéneo compuesto de derivados de fenilpropano que, sin bien no es un carbohidrato, integra la estructura de paredes celulares vegetales y es resistente a la acción de enzimas de los mamíferos, por lo que se incluye dentro del término fibra (Case *et al.*, 2011). Los fuertes enlaces químicos que posee, hace que la lignina sea también muy resistente a la digestión bacteriana (NRC, 2006).

Otros polisacáridos, entre ellos, los fructanos (inulina), galactanos, mananos, mucílagos y β -glucanos con enlaces β 1.3 y β 1.2, aunque se encuentran en pequeñas cantidades en los vegetales, también se consideran fibra (Gross *et al.*, 2000; Faber *et al.*, 2011).

La fibra también se puede clasificar de acuerdo con su velocidad de fermentación, digestibilidad, solubilidad en agua, capacidad de retención de agua y viscosidad (Gross *et al.*, 2000) como se describe en la Tabla 1. Aunque muchas fibras solubles son también altamente fermentables, la solubilidad se refiere a la capacidad de una fibra de dispersarse en el agua, mientras que la fermentabilidad corresponde a la magnitud en la cual las fibras y otros carbohidratos por acción microbiana en el colon son degradadas y pueden producir metabolitos como ácidos grasos de cadena corta (Middelbos *et al.*, 2007).

Tabla 1. Clasificación de la fibra en función de su velocidad de fermentación y solubilidad*.

Fracción fibrosa	Velocidad de fermentación	Solubilidad en agua
Fructanos	Rápidamente fermentables	Soluble
Galactanos		
Mananos		
Gomas		
Mucílagos		
Pectina	Moderadamente fermentables	Insoluble
Hemicelulosa	Lentamente fermentables	
Celulosa		
Lignina	No digerible ni fermentable	

*Adaptada de Gross et al., (2000).

Efectos biológicos de la fibra. La clasificación de la fibra permite comprender el efecto de su inclusión en las dietas para caninos. Las fibras insolubles, de fermentación lenta, aumentan el volumen de heces (Middelbos et al., 2007), dado que mantienen su estructura prácticamente intacta ante la digestión enzimática (Kienzle et al., 2006) y son capaces de retener cierta cantidad de agua (menos comparado con las solubles), lo que le agrega peso a las heces. La fibra insoluble propiamente dicha tiene una baja digestibilidad y también pueden alterar la digestibilidad de otros nutrientes (Earle et al., 1998). En este sentido, los alimentos que contienen fibra de lenta fermentación, tienen menor digestibilidad de la MS que aquellos sin fibra o que incluyen fibra de rápida fermentación (Gross et al., 2000). Es por esto que la fibra insoluble es común en las dietas formuladas para el control de peso en perros, para el tratamiento y la prevención del síndrome de colon irritable y

la constipación (German, 2006). Las fibras de fermentación lenta como la celulosa, lignina o cascara de maní, aumentan el volumen del contenido gástrico e intestinal y así promueven la sensación de saciedad con un menor consumo de calorías (Jewell y Toll, 1996). Borne et al. (1996) evaluaron una dieta baja en fibra (2,9%) frente a otra con alto contenido (27%), encontrando que los animales alimentados con la dieta alta en fibra redujeron en mayor medida el peso (2.86 +/- 0.3 kg vs. 2.14 +/- 0.3 kg; $p < 0.09$) y la grasa corporal (1.472 +/- 166 g vs. 853 +/- 176 g; $p < 0.05$).

De otra parte, las fibras solubles (ej: pectinas, gomas) tienen mayor capacidad para absorber agua y tienden a ser altamente fermentables. Fibras muy fermentables son convertidas rápidamente por las bacterias en ácidos grasos de cadena corta (AGCC), la fuente de energía preferida para colonocitos (Muir et al., 1996; Silvio et al., 2000). Estas fibras promueven la salud de la mucosa colónica y la función inmune. La fibra reduce el pH luminal mediante la producción de AGCC e incrementa la población de la microbiota anaeróbica (Gross et al., 2000). Las propiedades antibacteriales de los AGCC pueden reducir las bacterias intestinales patógenas y ser importantes en la prevención y recuperación del cáncer intestinal (Twedt, 1993). Alabaster et al. (1996) encontraron que el consumo de un alimento con salvado de trigo, contribuyó a prevenir y reducir los tumores de colon, y que su combinación sinérgica con el *psyllium* (fibra soluble) aumentó la protección.

Los colonocitos utilizan como fuente de energía el butirato en lugar de glucosa o aminoácidos (Roediger, 1982). Los AGCC constituyen una fuente de energía importante para los rumiantes (75% del requerimiento de energía digestible), sin embargo, en los perros el aporte es menor al 5% debido a que su tracto intestinal es corto y el tiempo de tránsito es breve (Brody, 1994). Consecuencia de la fermentación intestinal, la microbiota también genera biotina, vitamina K, CO₂ y metano. En ausencia de AGCC, la mucosa colónica se atrofia, se inflama y tiene menor resistencia a la translocación bacteriana. Es necesario incluir cierta cantidad de fibra en el alimento para mantener la salud y la función óptima de todo el tracto gastrointestinal, pero en especial de los colonocitos (Fahey et al. 1990b).

Para el caso de la fibra soluble y rápidamente fermentable, la suplementación debe hacerse lentamente y de manera progresiva, ya que gracias a su capacidad para absorber agua puede tener un efecto laxante y causar heces líquidas si se suministra en grandes cantidades (Fahey, et al., 1992). La velocidad y el grado de fermentación determinan las funciones fisiológicas de la fibra. A medida que aumenta la velocidad de fermentación se disminuye el tiempo de tránsito intestinal y la excreción de ácidos biliares (Burrows et al., 1982; Fahey et al., 1990a). Todas las fibras retienen agua en alguna medida, pero las solubles tienen mayor capacidad y pueden formar geles y soluciones viscosas dentro del tracto digestivo. Un aumento de la viscosidad puede retrasar la absorción de nutrientes, reducir la glucemia posprandial, retrasar el vaciado gástrico y reducir la interacción de las enzimas digestivas con el alimento.

Así como la fuente de fibra es importante, el nivel de inclusión de fibra también juega un papel importante. Dosis muy altas como las evaluadas por Zentek (1996) no son recomendadas. El autor encontró heces acuosas en perros cuando suministró en los alimentos 10% de pectina y 10% de goma guar (humedad fecal del 70.5 y 74.1%, respectivamente), mientras que con 10% de celulosa la humedad fue del 61%. Fahey et al. (1990a) evaluaron la digestibilidad de la materia seca (DMS) y de la materia orgánica (DMO) con diferentes fuentes de fibra, dentro de las que se encontraban pulpa de remolacha (moderada fermentación), pulpa de tomate (moderada fermentación), cáscaras de cacahuetes (lenta fermentación) y salvado de trigo (lenta fermentación). La DMS y la DMO para todos los tratamientos que incluyeron fibra fue menor que el tratamiento testigo que carecía de fuente de fibra exógena (DMS: 87,6 vs. 81,8%; DMO: 90,2 vs. 85,4%), pero los valores fueron similares entre las fuentes de fibra.

Fahey et al. (1990b) evaluando niveles crecientes de pulpa de remolacha (PR) 0, 2.5, 5.0, 7.5, 10.0 y 12.5% de la MS, equivalentes a 1.1, 1.65, 1.85, 2.60, 3.05, 3.5% de FC, encontraron un incremento lineal ($p < 0,05$) en el consumo de MS, MO, fibra cruda (FC) y energía bruta (EB), pero una disminución, también lineal, en la DMS y DMO, de 90,4% a 84,3% y de 93.4 a 87.6, respectivamente. La digestibilidad de la FC (DFC) tuvo un efecto cuadrático con el incremento de la PR ($p < 0.05$). La

excreción de energía bruta en las heces también aumentó linealmente. La energía digestible (ED), expresada en kcal/d, no mostró diferencias entre tratamientos, pero cuando se expresó en kcal/g de MS consumida o como porcentaje de la EB consumida, disminuyó 3.3 y 4.8%, respectivamente, y la EM disminuyó 3.8 y 6.2%, respectivamente.

Se concluye que las características de la fibra (solubilidad, fermentabilidad) y su nivel de inclusión impactan la digestibilidad de los macronutrientes y de la energía. En este sentido, más adelante se describen unas propuestas matemáticas que incluyen el contenido de fibra de los alimentos para predecir su densidad energética.

Fraccionamiento de la energía

La densidad energética pueden ser expresadas en términos de energía bruta, digestible, metabolizable o neta.

Energía bruta (EB). La cantidad máxima de energía de un alimento que es potencialmente disponible para el animal se define como EB y su concentración dentro de un alimento dependerá de la proporción de carbohidratos, grasas y proteínas. La EB puede determinarse directamente, sometiendo una muestra a combustión en una bomba calorimétrica, o indirectamente, conociendo la composición del alimento y la densidad energética de los nutrientes, últimos valores que pueden variar dependiendo de la cantidad de carbono, hidrógeno, y oxígeno presente en la molécula (NRC, 2006). Los polisacáridos no almidonosos (pectinas, celulosa, gomas, inulina y galacto-oligosacáridos) y el almidón tienen un calor de combustión cercano a 4.0 kcal/g. Los valores de EB de las proteínas del huevo (albúmina), leche (caseína, lacto-albúmina), tejido conectivo, gluten y soya son cercanos a 5.73 kcal/g. El calor de combustión del sebo, el aceite de pescado y el aceite de girasol oscila entre 9.39 y 9.46 kcal/g. El calor de la combustión del aceite de palma refinado es menor, 9,08 kcal/g, debido a la menor longitud de su cadena de ácidos grasos (Kienzle, et al. 2002).

Energía digestible (ED). Los animales son incapaces de utilizar toda la EB. Cuando a la EB se le descuentan las pérdidas de energía fecales se obtiene la energía digestible aparente (ED), correspondiente a la energía que se absorbe a través del intestino (Case et al., 2011). De acuerdo con Malca et al. (2006), los alimentos con una digestibilidad igual o superior al 80% son los apropiados para mascotas, no siendo recomendable alimentos que presenten valores inferiores al 75%. Castrillo et al. (2005) reportaron un contenido medio de EB de 5.2 Mcal/kg en alimentos extruídos para perros, con valores mínimos y máximos de 4.7 y 5.7 Mcal/kg, respectivamente. El coeficiente de digestibilidad de la EB fue 84.9% (promedio), fluctuando entre 68.76 y 91.05%, correspondientemente. Con base en esta información, el contenido de ED fue de 4.4 Mcal/kg, con valores extremos correspondiente a 3.3 y 5.2 Mcal/kg. Se han propuesto metodologías directas e indirectas para estimar la ED de los alimentos para los perros.

Estimación directa. Implica cuantificar los nutrientes consumidos y excretados a través de las heces. La producción de heces se cuantifica a través de un método directo, como la colecta total (CT) de las heces. La CT de heces es el método estándar o de referencia. Este método implica tener los animales confinados individualmente en jaula metabólica (Dobenecker et al., 2010), lo que permite coleccionar las heces separadas de la orina, prevenir la coprofagia y tener un mayor control de factores ambientales (Sabchuk et al., 2012). De acuerdo con Adeola (2001), el método involucra un período de adaptación a la dieta, que es generalmente de 3 a 7 días, seguido por un período de colección de excretas de 4 a 6 días. Nott et al. (1994) sugirieron que los plazos cortos, 3 de adaptación y 4 de colección, no reducen la precisión, en tanto que Hervera et al. (2008) proponen 10 días de adaptación seguidos de 7 días de colección. Sin embargo, los protocolos de la AAFCO (2014) y FEDIAF (2014) recomiendan 5 días de adaptación seguidos de 5 días de colección.

La identificación de las heces correspondientes a los alimentos consumidos en el periodo de evaluación es un problema técnico en los ensayos de CT. Esto se soluciona mediante la adición de un marcador a la dieta para determinar visualmente

cuando iniciar y detener la recogida de heces. Un marcador es una sustancia no absorbible que tiñe las heces y se añade en la comida al principio y al final del período de recogida. La colección comienza con la aparición de las primeras heces fecales de color; las heces marcadas son las primeras heces recogidas, que se guardan para su posterior procesamiento y análisis de laboratorio, junto con los siguientes heces no coloreadas producidas en los próximos días (en la ausencia del marcador, las heces vuelven a su color habitual). El periodo de recogida termina añadiendo el marcador de nuevo a la comida. La colección se detiene cuando las heces de color comienzan a aparecer; pero en esta ocasión no se recogen las heces marcadas. Algunos colorantes, tales como el índigo carmín y rojo carmín, se utilizan comúnmente como marcadores, en niveles que van desde 0,25 hasta 0,5% de la dieta (Lindemann et al, 2010; Stein et al, 2011; Sands et al, 2001). La digestibilidad aparente por CT se calcula con la siguiente ecuación: $\text{Digestibilidad} = [(\text{cantidad de nutriente consumido} - \text{cantidad de nutriente en las heces}) / \text{cantidad de nutriente consumido}] \times 100$ (Lima et al., 2014).

De acuerdo con Kawauchi et al., (2011), La estimación directa de la digestibilidad y del contenido energético también puede ser obtenida para ingredientes (ing) específicos y no para el alimento en su totalidad, caso en el cual se pueden usar los métodos de diferencia y de regresión, de gran acogida en estudios con cerdos y aves. En el primer caso se utiliza una dieta de referencia (dr), sin participación del ingrediente que se pretende evaluar, y una dieta test (dt), que si lo incluye en la formulación. Con ambos alimentos se realizan pruebas de digestibilidad y posteriormente se aplica la fórmula: $\text{CDA}_{\text{ing}} = \text{CDA}_{\text{rd}} + [\text{CDA}_{\text{dt}} - \text{CDA}_{\text{dr}}] / [\text{Nivel de inclusión del ingrediente en la dt (g/kg)/100}]$, donde CDA corresponde al coeficiente de digestibilidad aparente. En el método de regresión se tiene una dieta basal, sin participación del ingrediente que se pretende evaluar, y otras dietas que si lo incluyen en niveles crecientes. Los valores de CDA del alimento son ajustados a un modelo de regresión lineal, y el CDA_{ing} se estima a través del intercepto, cuando la participación del ingrediente en el alimento se extrapola a un 100%.

Método del indicador. El método del indicador es un método alternativo que no requiere hacer colecta total, ni alojar los animales en jaula metabólica (Schneider y Flatt, 1975). Algunos investigadores se refieren al indicador como un método indirecto cuando quieren compararlo con el CT (Ly et al., 2002; Schneider and Flatt, 1975, Osorio et al, 2012). Para recoger las muestras de heces de los perros basta con disponer de caniles o perreras. Se trata de la administración de una sustancia inerte denominada "indicador externo" en la dieta y luego recoger una muestra representativa de heces. Un indicador adecuado debe cumplir con las siguientes características: ser inerte, no tóxico, no digerible, totalmente recuperable en las heces, que se mezcle fácilmente en la comida, y químicamente sea fácil de analizar (Adeola, 2001). Una vez se conozca la concentración del indicador y del nutriente en el alimento y en las heces, la digestibilidad aparente puede ser calculada utilizando la ecuación: $\text{Digestibilidad} = 100 - (100 \times (\% \text{ indicador en el alimento} / \% \text{ indicador en las heces}) \times (\% \text{ nutriente en las heces} / \% \text{ nutriente en el alimento}))$.

El sesquióxido de cromo (Cr_2O_3) es el indicador externo que se utiliza con mayor frecuencia (Jang, 2014), en niveles que fluctúan entre 0.2 y 0.3% de la dieta (Faber et al., 2011; Gajda et al, 2005). Otros indicadores, como la ceniza insoluble en ácido, la materia seca indigestible, fibra detergente neutro indigestible, fibra detergente ácido indigestible y lignina en detergente ácido son componentes naturales de los alimentos, por lo que son considerados como indicadores internos (Sales et al., 2004; Pinto et al., 2013).

Como se ha mencionado, la CT de las heces no se requiere para el MI. Este método se basa en una técnica conocida como "toma de muestras puntuales" o "grab sample" en el que las muestras de heces se toman directamente del recto o de heces recientes. Sin embargo, no existe un procedimiento único para la toma de muestras de heces, ni un acuerdo sobre el número mínimo de muestras o de días de recolección que se requieren para hacer un muestreo representativo. Agudelo et al. (2010) reportaron que se requiere una muestra compuesta de material fecal de varios días para alcanzar una representatividad de nutrientes menos digeribles, mientras que una única muestra tomada cuando la excreción de cromo se ha

estabilizado podría ser suficiente para los componentes más digeribles tales como la materia seca (MS) y la energía. Jang et al. (2014) reportaron que la digestibilidad aparente y la concentración de cromo fecal en cerdos se estabilizaron cinco días después de un suministro constante de las dietas que contenían el indicador. También se encontró que se requiere una muestra compuesta de al menos dos días para lograr una mayor precisión y una menor variación en comparación con una sola muestra tomada al azar. Mroz et al. (1996) encontraron que la digestibilidad por el MI fue inferior a la calculada con la CT, lo cual se explica por la incompleta recuperación del indicador en las heces.

Dentro de las ventajas del método del indicador está el tipo de alojamiento requerido (canil), que proporciona a los animales mayor espacio, sensación de bienestar y les permite expresar su comportamiento natural (Spangenberg, 2007). Sin embargo, mayor cuidado se requiere para asegurar que el indicador no sea reciclado por coprofagia, ni que las heces se contaminen con factores ambientales como lluvia y polvo (Sabchuk et al., 2012).

Estimación indirecta. Metodológicamente se basan en la composición química de la dieta, especialmente en su contenido de fibra. Aunque los perros pertenecen al orden Carnívora, ellos son omnívoros en sus hábitos alimenticios y capacidad digestiva, razón por la cual deben recibir fibra dietética como un componente de la dieta. Las fibras dietéticas han renovado su interés en la industria de alimentos para mascotas a causa de los efectos beneficiosos de las fibras fermentables y solubles en la salud. Estos efectos incluyen aumento de la viscosidad de la digesta, vaciado gástrico retardado, sensación de saciedad, reducción de la tasa de captación de glucosa, reducción del colesterol en la sangre, y el aumento de crecimiento de las bacterias comensales en el intestino. Por el contrario, las fibras no fermentables aumentan el flujo de la digesta, diluyen la densidad energética de la dieta, y aumentan la masa fecal. La pulpa de remolacha y la celulosa se utilizan comúnmente como una fuente de fibra dietética en los alimentos para mascotas. La pulpa de remolacha contiene fibra soluble y los componentes insolubles en una

proporción deseable, mientras que la celulosa se considera principalmente como insoluble y poco fermentable. (Godoy et al., 2013).

Kienzle et al. (1998a) utilizando una base de datos que incluyó 128 estudios de digestibilidad, propuso un modelo de regresión que consideró los contenidos de proteína cruda (PC), grasa, extracto libre de nitrógeno (ELN) y fibra cruda (FC) como variables independientes para estimar la ED: $ED \text{ (kcal/kg)} = 5.11 \times PC + 8.94 \times \text{grasa} + 3.49 \times ELN - 2.87 \times FC$ (Composición química expresada en g/kg). Esos investigadores encontraron una relación lineal negativa entre FC y ED. De la misma manera, Castrillo et al. (2001), utilizando los contenidos de grasa y FC de 38 alimentos para perros, desarrolló una ecuación $(ED, \text{Mcal/kg MS} = 3.58 + 7.21 \times \text{grasa} - 15.45 \times FC)$. Composición química expresada en kg/kg MS) que explicó el 93,1% de la variación de los datos evaluados. En su estudio se concluyó que el contenido de FC puede ser un buen predictor de la ED.

Kienzle (1998b) y Castrillo et al. (2001) propusieron ecuaciones que estiman la digestibilidad aparente de la energía con base en el contenido de FC del alimento; a saber: Digestibilidad EB (DEB, %)= $91,2 - 1,43 \times FC \text{ (% MS)}$ (Kienzle (1998b) y DEB (%) = $94.0 - 4.04 \times FC \text{ (% MS)}$ (Castrillo et al., 2001); no obstante, factores relacionados con la digestibilidad de la fibra y el procesamiento del alimento no son considerados (Castrillo et al., 2009). Además, el valor de FC no es un buen predictor del contenido real de fibra de un alimento (Hervera et al., 2007); por tanto, esta aproximación matemática puede generar sobreestimación de la densidad energética en los alimentos altos en fibra. Van Soest (1973) indicó que la FC sólo cuantifica el 50- 80% de la celulosa, 10- 50% de la lignina y 20% de la hemicelulosa. En esa misma dirección Bartges y Anderson (1997) señalan que con la determinación de FC sólo se cuantifica entre el 5 y el 20% de la fibra total. Kienzle et al. (2006) encontró mayor precisión utilizando una ecuación basada en el contenido de fibra dietaria total (FDT), respecto la ecuación basada en el contenido de FC ($r = 0.94$ y 0.87 , respectivamente). El método utilizado para determinar FC es antiguo, fácil y económico, pero subestima el contenido de fibra fermentable de los alimentos (Bartges y Anderson, 1997). El método que cuantifica FDT (Proskey et al. 1985) es

más complejo y costoso, pero estima mejor el contenido real de la fibra fermentable y no fermentable de la dieta. Finalmente se tiene la aproximación del NRC (1985) usando los factores Atwater modificados, de tal forma que $ED \text{ (Kcal/kg)} = PC \times 3.3 + EE \times 8.5 + ELN \times 3.5$, en donde la composición química se expresa en g/kg. Cabe resaltar que el uso de cualquiera de las anteriores ecuaciones no permite identificar los efectos que sobre la digestibilidad energética pueden darse como consecuencia de la inclusión de aditivos enzimáticos en los alimentos para perros (Case et al., 2011). A nivel comercial, el contenido de fibra de los alimentos es muy variable, fluctuando entre 0.61 y 9.40% (Hervera et al., 2007), siendo éste el nutriente que más disminuye la digestibilidad y el contenido energético de los alimentos. No obstante, el efecto de la fibra sobre la digestibilidad depende de la fuente utilizada, como indicado por Godoy et al. (2013), quienes informaron que la fibra de maíz es una fuente de fibra eficaz para los animales domésticos, que no muestran efectos perjudiciales sobre la digestibilidad de los nutrientes y la palatabilidad.

El contenido de ED de los alimentos también puede predecirse por espectroscopia de infrarrojo cercano (NIRS) (Castrillo et al., 2005) y técnicas de digestión *in vitro* (Hervera et al., 2007). El NIRS permite una rápida valoración nutricional de los alimentos, siempre y cuando se disponga de suficientes datos *in vivo* que permitan realizar un proceso de calibración robusto (Castrillo et al., 2005). Los autores usaron el NIRS para predecir el contenido de ED de alimentos extruidos comerciales para perros, obteniendo un coeficiente de determinación y un error estándar (ambos de validación cruzada) de 0.93 y 0.11 Mcal/kg MS, respectivamente.

El método *in vitro* pretende simular el proceso digestivo en el estómago y el intestino delgado a través de dos etapas de incubación multienzimática. La primera etapa tiene una duración de 2 horas con pepsina (10 mg/g de alimento) en pH ácido, la segunda se realiza con pancreatina (100 mg/g de alimento) por 4 horas. El residuo indigestible se obtiene por filtración y posteriormente se incinera para obtener la digestibilidad de la materia orgánica (Hervera et al., 2007). Siguiendo este procedimiento, los autores predijeron la digestibilidad aparente *in vivo* de la materia orgánica (dMO) y de la energía (dE), así como el contenido de ED en 54 alimentos

comerciales extruidos para perros (valores *in vivo* previamente obtenidos mediante pruebas de digestibilidad) observando una relación lineal entre la dMO *in vitro* e *in vivo* ($R^2 = 0,92$) y entre dMO *in vitro* y la ED *in vivo* ($R^2 = 0,92$). La exactitud de la predicción del contenido de ED por el método *in vitro* ($R^2 = 0,97$) fue mayor que la de la ecuación de NRC (1985) ($R^2 = 0,87$) y un poco más alta que la propuesta por NRC (2006) ($R^2 = 0,95$). De acuerdo con estos resultados, el método *in vitro* proporciona una predicción precisa de ED y se puede utilizar como una alternativa simple y reproducible para evitar el uso de animales experimentales en los ensayos de digestión.

Energía metabolizable (EM). La siguiente etapa del fraccionamiento de la energía es la metabolibilidad. Pérdidas energéticas ocurren como resultado de la producción de gases y la excreción de urea. Como la producción de gases en los perros, al igual que en los gatos, es mínima (Wichert et al., 2014; Castrillo et al., 2009), sólo las pérdidas urinarias son consideradas para determinar la energía metabolizable (EM), expresión más comúnmente usada para expresar la densidad energética de los alimentos para perros. Hodgkinson et al. (2008) determinaron el contenido de EM de 15 marcas comerciales de alimentos secos para perros en crecimiento y adultos en mantenimiento. La EM en cada caso fluctuó entre 3507-4584 kcal/kg (media: 4022 kcal/kg) y 3178-4405 kcal/kg (media: 3871 kcal/kg), respectivamente. Estos valores correspondieron a una metabolibilidad (EM/EB) de 79.3% en ambos casos. La determinación de EM, al igual que la de ED, puede realizarse directa o indirectamente.

Estimación directa. Requiere la colecta de total de orina y la determinación de las pérdidas energéticas como consecuencia de la excreción de nitrógeno urinario (Adeola, 2001). La recolección de orina por lo general comienza algunas horas después de iniciado el período de recogida de heces y se completa después del final de ese período (Agudelo et al., 2007). La orina se recoge en un recipiente situado debajo de la jaula metabólica. Para detener el crecimiento microbiano y la pérdida de nitrógeno (volatilización de amoníaco) al recipiente se le añade generalmente con un ácido inorgánico (ej: ácido sulfúrico) (Kawauchi et al., 2011). El volumen de orina

producida se mide diariamente y luego una alícuota se almacena congelada para su posterior análisis. Finalmente, el consumo de EM se determina por la diferencia entre el consumo de ED y las pérdidas energéticas a través de la orina. En caniles, la imposibilidad de colectar la orina impide realizar estudios de metabolicidad.

Estimación indirecta. La evaluación de EM puede ser costosa y requiere tiempo. Por lo tanto, propuestas matemáticas para estimar la EM a partir del análisis proximal de los alimentos surgieron con los factores Atwater (1902, 1910). Los factores Atwater (1902) de 4, 9 y 4 kcal/g estiman los valores de EM de la PC, la grasa y el ELN, respectivamente, sin considerar la fibra dentro de la ecuación. Atwater (1902) partió del supuesto que la digestibilidad de las proteínas, las grasas y los carbohidratos era 90, 96 y 98%, respectivamente (NRC, 2006), y que las pérdidas metabólicas de la proteína eran constantes (1,04 kcal/g PC). Para desarrollar estos factores se emplearon ingredientes de alta digestibilidad como la carne, menudencias (sin hueso o harina de hueso), pollo, pescado, productos almidonosos altamente purificados y productos lácteos. Los alimentos secos para mascotas usualmente presentan una digestibilidad para los principios energéticos menor al 90% (Castrillo et al., 2005), con algunas excepciones para la grasa (Dobenecker et al., 2010), consecuentemente, los factores Atwater (1902) sobrestiman los valores de EM. Kienzle (2002), utilizando una base de datos de alimentos para perros (n = 124), relacionó la EM (kcal/g) predicha utilizando la ecuación de Atwater (1902) con la determinada experimentalmente, demostrando que la EM predicha sobrestimó los alimentos con menos de 4 Kcal/g, que representan la mayor cantidad de los alimentos disponibles en el mercado (NRC, 2006).

Posteriormente, Atwater (1910) propuso los factores Atwater modificados (3.5, 8.5 y 3.5 kcal/g para la PC, la grasa y el ELN, respectivamente), que proveen una mejor estimación de la EM que los factores Atwater (1902). Los factores Atwater modificados asumen digestibilidades más bajas; 80% para las proteínas, 90% para las grasas y 85% para el ELN. El método supone que la FC no genera energía. Si bien los factores Atwater modificados son aceptados por la AAFCO (2014) and

FEDIAF (2014), es sabido que subestiman el contenido de EM de los alimentos bajos en fibra y muy digestibles, en tanto que sobreestiman el contenido de EM de alimentos altos en FC o con muy baja digestibilidad de proteínas, grasas y carbohidratos (Castrillo et al., 2009; Hand et al., 2000). Kienzle (2002) utilizando una base de datos de alimentos para gatos (n = 83), relacionó la EM (kcal/g) predicha utilizando los factores Atwater modificados (1910) con la determinada experimentalmente, demostrando que, como ocurre con los alimentos para perros, la EM predicha subestima los alimentos con más de 3.7 Kcal/g y sobrestima los que tienen menos de 3.7 kcal/g. Es innegable que una ecuación que asume una digestibilidad fija para los nutrientes no puede cubrir con precisión toda la gama de productos existentes en el mercado, ya que ignora posibles diferencias entre ingredientes de la dieta y métodos de procesamiento (Hervera et al., 2007). No es sorprendente que en los productos que tienen baja o alta digestibilidad, tales como dietas para reducción peso o para animales convalecientes, respectivamente, la predicción sea inexacta (Kienzle et al., 1998b).

En relación con los factores Atwater, varios autores, especialmente en nutrición humana, han cuestionado el potencial aporte energético que puede realizar la fibra dietética, elemento no considerado en la ecuación. La fibra dietaria es un término genérico que incluye sustratos de estructura química única, propiedades físicas características y efectos fisiológicos individuales (Kritchevsky, 1988). Este complejo grupo comprende: a) polisacáridos no almidonosos: celulosa, hemicelulosa, pectina, gomas y mucílagos, b) fibra funcional: almidón resistente, fructanos, fructooligosacáridos y lactulosa (Hand et al., 2000). Muchas de las fibras son fermentadas en alguna extensión por la población microbiana residente en el tracto gastrointestinal, generando ácidos grasos de cadena corta que pueden ser absorbidos (Godoy et al., 2013; Hand et al., 2000). Cummings (1983) y Miles (1992) han sugerido que los polisacáridos no almidonosos presentes en la dieta del hombre pueden aportar aproximadamente 3 kcal/g, lo que puede representar una significativa fuente de energía en las personas con dietas altas en fibra.

Toda vez que las necesidades de energía de los perros son comúnmente expresadas en unidades de EM, las metodologías que solo estiman la ED quedan incompletas. En este sentido, el NRC (2006) plantea que conociendo la ED y utilizando un factor de corrección por las pérdidas energéticas urinarias puede predecirse la EM. El factor de corrección asume que las pérdidas urinarias son 1.04 kcal/g de PC o 1.25 kcal/g de proteína digestible (PD), asumiendo una digestibilidad del 83,5% (NRC, 1985). Todas las aproximaciones matemáticas propuestas por el NRC (2006) para estimar la EB, la ED y la EM se muestran en la Table 2.

Tabla 2. Ecuaciones del NRC (2006) para predecir energía bruta (EB), energía digestible (ED) y energía metabolizable (EM) en alimentos para perros.

Paso 1. Determinación de la EB por bomba calorimétrica o utilizando la ecuación:

$$EB_{\text{pred}} \text{ (kcal/kg)} = (5.7 \times \text{PC}) + (9.4 \times \text{grasa}) + (4.1 \times (\text{ELN} + \text{FC}))$$

Paso 2. Estimación del porcentaje de digestibilidad de la EB:

$$\% \text{ dig } EB_{\text{pred}} \text{ (kcal/kg)} = 91.2 - (1.43 \times \% \text{FC en MS})$$

Paso 3. Contenido de ED:

$$ED_{\text{pred}} \text{ (kcal/kg)} = EB_{\text{pred}} \times \% \text{ dig } EB_{\text{pred}} / 100$$

Paso 4. Predicción de pérdidas de energía por la orina (E_o):

$$E_o = 1.04 \times \text{g PC}$$

$$E_o = 1.25 \times \text{g PD}$$

Paso 5. Predicción de la EM:

$$EM_{\text{pred}} \text{ (kcal/kg)} = ED_{\text{pred}} - E_o$$

ELN: extracto libre de nitrógeno, FC: fibra cruda, PC: proteína cruda, PD: proteína digestible

Energía neta (EN). La EM puede subdividirse en energía neta (EN) y termogénesis dietaria (energía necesaria para digestión y absorción de nutrientes). Parte de la EN se destina para soportar el desarrollo de las funciones asociadas con el mantenimiento del organismo (energía neta de mantenimiento, EN_m), resultando en una producción adicional de calor. Cuando la producción total de calor se substra de la EM, se obtiene la energía neta retenida (EN_r), correspondiente a la energía que finalmente es utilizada para realizar trabajo físico, crecimiento, gestación o lactancia. (Case et al., 2011). Para calcular la EN de un alimento es necesario medir el calor

perdido. La producción de calor puede medirse directamente mediante un calorímetro animal o en forma indirecta a partir del intercambio de oxígeno y dióxido de carbono (Hand et al., 2000; Larsson et al., 2014). No obstante, esta forma de expresar el contenido energético de los alimentos no es comúnmente empleada en la alimentación de animales de compañía (Castrillo et al., 2009).

Las ecuaciones de predicción descritas en la presente revisión de literatura fueron aplicadas a una base de datos de 120 alimentos para perros (Table 3). Los alimentos fueron clasificados de acuerdo al segmento de mercado al que pertenecen (super premium, premium, económico y popular) y al tipo de animal al que están dirigidos (cachorros y adultos). La ED y la EM predichas con el NRC (2006) fueron tomadas como valores de referencia, con base en los hallazgos de Hervera et al. (2008), y contrastadas con las restantes ecuaciones a través de una prueba t pareada ($\alpha = 5\%$). Hervera et al. (2008) comparó el potencial de NRC (2006), método de digestión in vitro, la tecnología NIRS, y el NRC (1985) para predecir la ED de alimentos comerciales para perros obtenidos in vivo (4,62 Mcal / kg MS). Los autores demostraron que los tres primeros métodos presentan una mayor precisión ($R^2 =$ en 0,93 a 0,99) que el propuesto por el NRC (1985) ($R^2 = 0.90$).

Tabla 3. Predicción de la energía digestible y metabolizable (DE y ME, respectivamente) para perros mediante la ecuación del NRC (2006) comparado con otras aproximaciones matemáticas.

Tipo de alimento (Segmento de mercado)	Etapa fisiológica	n (120)	ED					EM		
			Ec. 1	Ec. 2	Ec. 3	Ec. 4	Ec. 5	Ec. 6	Ec. 7	Ec. 8
Super Premium	Cachorros	17	4621 ^a	4594b	4501b	4380b	3999b	4278a	4512b	4065b
Super Premium	Adultos	34	4433 ^a	4382b	4237b	4115b	3895b	4135a	4399b	3952b
Premium	Cachorros	12	4242 ^a	4152b	4011b	4016b	3652b	3936a	4155b	3711b
Premium	Adultos	17	4083 ^a	3979b	3803b	3747b	3582b	3818a	4072b	3633b
Económico	Cachorros	8	4106 ^a	4024b	3813b	3726b	3558b	3799a	4048b	3617b
Económico	Adultos	18	3928 ^a	3811b	3618b	3517b	3418b	3686a	3958b	3527b
Popular	Adultos	14	3710 ^a	3573b	3267b	3161b	3298b	3474a	3764b	3344b

ab, letras minúsculas en la misma fila indican diferencias significativas entre las medias obtenidas por el NRC (2006) (Ec. 1 y la Ec. 6 para ED y EM, respectivamente) y las otras ecuaciones ($p < 0.05$).

Ec. 1: ED (kcal/kg MS) = EB * ((91.2 - 1.43 x FC) / 100) (NRC, 2006) y EB (kcal/kg MS) = (5.7 x PC) + (9.4 x grasa) + (4.1 x (ELN+ FC))

Ec. 2: ED (kcal/kg MS) = 5.11 x PC + 8.94 x grasa + 3.49 x ELN - 2.87 x FC) (Kienzle et al., 1998a)

Ec. 3: ED (kcal/kg MS) = (3.58 + 7.21 x grasa - 15.45 x FC) x 1000 (Castrillo et al., 2001)

Ec. 4: ED (kcal/kg MS) = EB * ((94.0 - 4.04 x FC) / 100) (Castrillo et al., 2001)

Ec. 5: ED (kcal/kg MS) = (3.3 x PC) + (8.5 x grasa) + (3.5 x ELN) (NRC, 1985)

Ec. 6: EM (kcal/kg MS) = EB x ((91.2 - 1.43 x FC) / 100) - (1.04 x PC) (NRC, 2006)

Ec. 6: EM (kcal/kg MS) = (4 x PC) + (9 x grasa) + (4 x ELN) (Atwater, 1902)

Ec. 7: EM (kcal/kg MS) = (3.5 x PC) + (8.5 x grasa) + (3.5 x ELN) (Atwater, 1910)

La ED predicha por el NRC (2006) fue mayor a la obtenida con las restantes aproximaciones. De otra parte, la EM estimada por este sistema presenta un valor intermedio al obtenido con los factores Atwater (1902 y 1910). Los resultados obtenidos demuestran que la composición química de las dietas no es suficiente para predecir su contenido de ED, aún partiendo de las mismas variables independientes, como sucede con las eq. 1 y 4, que utilizan exclusivamente el contenido de CF para estimar la dE. En el caso de los factores Atwater se asumen valores constantes de digestibilidad para los nutrientes sin tener en cuenta la composición de ingredientes empleados para la formulación y los tratamientos térmicos a los que son sometidos los alimentos, factores que a su vez determinan el segmento de mercado al cual corresponden. No todas las ecuaciones incluyen el contenido de fibra para estimar la densidad energética del alimento (factores Atwater) y cuando lo hacen, su magnitud es variable. En el entendido de que la fibra es el nutriente que más impacta negativamente la ED y, por ende, la EM de la energía, es necesario conducir estudios que evalúen el efecto de diferentes fuentes y niveles de fibra, realizando pruebas de digestibilidad y metabolicidad *in vivo* que permitan validar el valor predictivo de las ecuaciones ya existentes.

Conclusiones

En los perros, la EM representa la forma más común de expresar la densidad energética de los alimentos y, hasta la fecha, en su cálculo no ha considerado el aporte que la fibra dietética hace al metabolismo energético. Surgen las preguntas: ¿Cuál es el efecto del nivel de fibra sobre el contenido de EM de la dieta? ¿Este efecto es el mismo para todas las fuentes de fibra? En un mercado donde la oferta de alimentos de origen nacional e internacional es creciente, los esfuerzos de investigación deben encaminarse a evaluar el efecto que diferentes fuentes de fibra tienen sobre el contenido de EM, toda vez que éste es el nutriente que más impacta la digestibilidad y la metabolicidad. Se puede esperar que diferentes tipos de fibra (solubles, insolubles) contribuyan de forma diferente a la EM de la dieta, desde que la digestibilidad de las diferentes fibras puede variar. Esta propuesta a su vez, debe ir acompañada de mayor rigurosidad en el análisis químico del alimento, superando el tradicional análisis de fibra cruda, y del desarrollo de pruebas de digestión y

metabolismo que permitan proponer nuevas aproximaciones matemáticas y validar las ya existentes.

Bibliografía

AAFCO. 2014. Association of American Feed Control Officials. Official Publication. Dog and cat nutrient profiles. Atlanta, GA. 87 pp.

Adeola, O. 2001. Digestion and balance techniques in pigs. In: Swine nutrition, 2nd ed. Lewis, A. J. and L. L. Southern (Eds.). CRC Press LLC, Boca Raton, FL. 903-916 pp.

Agudelo, J.H.; Lindemann, M.D. and Cromwell, G.L. 2010. A comparison of two methods to assess nutrient digestibility in pigs. *Livestock Science*. 133: 74–77.

Agudelo, J.H; Lindemann, M.D.; Cromwell, G.L.; Newman, M.C. and Nimmo, R.D. 2007. Virginiamycin improves phosphorus digestibility and utilization by growing–finishing pigs fed a phosphorus-deficient corn–soybean meal diet. *J. Anim. Sci.*, 85, 2173–2182.

Alabaster, O.; Tang, Z. and Shivapurkar, N. 1996. Dietary fiber and the chemopreventive modelation of colon carcinogenesis. *Mutat Res*. 350(1):185-97.

Atwater, W.O. 1902. Principles of nutrition and nutritive value of foods. *Farmer's Bulletin*, 142.

Atwater, W.O. 1910. Principles of nutrition and nutritive value of foods. Washington, D.C.: U.S. Department of Agriculture. *Farmer's Bulletin*, 142.

Bartges, J. and Anderson, W.H. 1997. Dietary fiber. *Vet. Clin. Nutr.* 4, 25-28.

Bermingham, E.N.; Thomas, D.G.; Cave, N.J.; Morris, P.J.; Butterwick, R.F. and German, A.J. 2014. Energy requirements of adult dogs: A meta-analysis. *Plos One*; 9: 1-23.

Borne, A.T.; Wolfsheimer, K.J.; Truett, A.A.; Kiene, J.; Wojciechowski, T.; Davenport, D.J.; Ford, R.B. and West, D.B. 1996. Differential metabolic effects of energy restriction in dogs using diets varying in fat and fiber content. *Obes Res.* 4:337–45.

Brody, T.D. 1994. Regulation of energy metabolism. In: *Nutritional Biochemistry*. San Diego, CA: Academic Press Inc 125-220

Burrows, C.F.; Kronfeld, D.F.; Banta, C.A. and Merritt. A.M. 1982. Effects of fiber on digestibility and transit time in dogs. *J. Nutr.* 112:1726–1732.

Case, L.P.; Daristotle, L.; Hayek, M.G. and Raasch, M.F. 2011. *Canines and feline nutrition*, 3rd Edition. USA: Mosby Elsevier.

Castrillo, C.; Baucells, M.; Vicente, F.; Muñoz, F. and Andueza, D. 2005. Energy evaluation of extruded compound foods for dogs by near-infrared spectroscopy. *J. Anim. Physiol. a. Anim. Nutr.* 89: 194-198.

Castrillo, C.; Hervera, M. and Baucells, M.D. 2009. Methods for predicting the energy value of pet foods. *R. Bras. Zootec.* 38: 1-14.

Castrillo, C.; Vicente, F. and Guada, J.A. 2001. The effect of crude fiber on apparent digestibility and digestible energy content of extruded dog foods. *J. Anim. Physiol. a. Anim. Nutr.* 85: 231-236.

Cummings, J.H., 1983. Fermentation in the human large intestine: evidence and implications for health. *The Lancet.* 321, 1206-1209.

Dobenecker, B.; Frank, V. and Kienzle, E. 2010. High calcium intake differentially inhibits nutrient and energy digestibility in two different breeds of growing dogs. *J. Anim. Physiol. a. Anim. Nutr.* 94: 109-114.

Earle, K.E.; Kienzle, E.; Opitz, B., Smith PM and Maskell IE. 1998. Fiber Affects Digestibility of Organic Matter and Energy in Pet Foods. *J. Nutr.* 128: 2798S–2800S.

Faber, T.A.; Hopkins, A.C.; Middelbos, I.S.; Price, N.P. and Fahey, Jr. G.C. 2011. Galactoglucomannan oligosaccharide supplementation affects nutrient digestibility, fermentation end-product production, and large bowel microbiota of the dog. *J. Anim. Sci.* 89: 103-112.

Fahey, Jr.G.C.; Merchen N.R.; Corbin J. E.; Hamilton, A.K.; Serbe, K.A.; and Hirakawa, D.A. 1990a. Dietary fiber for dogs: II. Iso-total dietary fiber (TDF) additions of divergent fiber sources to dog diets and their effects on nutrient intake, digestibility, metabolizable energy and digesta mean retention time. *Journal of animal science* 68:4229-4235.

Fahey, Jr.G.C.; Merchen N.R.; Corbin J. E.; Hamilton, A.K.; Serbe, K.A.; Lewis, S.M. and Hirakawa, D.A. 1990b. Dietary fiber for dogs. I. Effects of graded levels of dietary beet pulp on nutrient intake, digestibility, metabolizable energy and digesta mean retention time. *J. Anim. Sci.* 68:4221–4228

Fahey, G. C., Jr., N. R. Merchen, J. E. Corbin, A. K. Hamilton, K. A., Bauer, L.L. Titgemeyer, E.C. and Hirakawa, D.A. 1992. Dietary fiber for dogs: III. Effects of beet pulp and oat fiber additions to dog diets on nutrient intake, digestibility, metabolizable energy, and digesta mean retention time. *Journal of animal science.* 70:1169-1174.

FEDIAF. 2014. European Pet Food Industry Federation. Nutritional Guidelines for Complete and Complementary Pet Food for Cats and Dogs. Bruxelles, Belgium. 41-44 pp.

Félix, A. P.; Gabeloni, L. R.; Brito, C.B.M.; Oliveira, S. G.; Silva, A. V. F. and Maiorka, A. 2012. Effect of b-mannanase on the digestibility of diets with different protein sources in dogs determined by different methodologies. *Journal of Animal Science*. 90:3060-3067.

Gajda, M.; Flickinger, E.A.; Grieshop, C.M.; Bauer, L.L.; Merchen, N.R. and Fahey, Jr. G.C. 2005. Corn hybrid affects *in vitro* and *in vivo* measures of nutrient digestibility in dogs. *J. Anim. Sci.* 83: 160-171.

German, A.J. 2006. The growing problem of obesity in dogs and cats. *J. Nutr.* 136: S1940–S1946.

Godoy, M.R.C.; Kerr, K.R. and Fahey, G.C. 2013. Alternative dietary fiber sources in companion animal nutrition. *Nutrients*. 5: 3099-3117.

Gross KL, Wedekind KJ, Cowell CS, Shoenherr WD, Jewell DE, Zincker SC, Debraekeleer J, Frey RA. 2000. *Small Animal Clinical Nutrition*. Mark Morris Institute. 2: 48-55

Hand, S.M.; Tatcher, C.D.; Remillard, R.L. and Roudebush, P. 2000. *Small animal clinical nutrition*. 4th Edition, Hill`s Pet Nutrition Inc. Mark Morris Institute.

Hervera, M.; Baucells, M.D.; Blanch, F. and Castrillo, C. 2007. Prediction of digestible energy content of extruded dog food by *in vitro* analyses. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*. 91: 205–209.

Hervera, M.; Baucells, M.D.; Torre, C.; Buj, A. and Castrillo, C. 2008. Prediction of digestible energy value of extruded dog food: comparison of methods. *J. Anim. Physiol. a. Anim. Nutr.* 92: 253–259.

Hodgkinson, S.M.; Ibáñez, O.L.; Alvarez, C. and Alomar, D. 2008. Evaluation of the

amount of metabolizable energy in the dog food quantities recommended by the manufacturers to be fed daily to dogs, in relation to their energy requirements. *Arch Med Vet.* 40: 251-258.

Jang, Y.D.; Lindemann, M.D.; Agudelo-Trujillo, J.H.; Escobar, C.S.; Kerr, B.J.; Inocencio, N. and Cromwell, G.L. 2014. Comparison of direct and indirect estimates of apparent total tract digestibility in swine with effort to reduce variation by pooling of multiple day fecal samples. *J. Anim. Sci.* 92: 4566-4576.

Jewell, D.E. and Toll, P.W. 1996. Effect of fiber on food intake in dogs. *Veterinary Clinical Nutrition.* 3: 115-118

Kawauchi, I.M.; Sakomura, N.K.; Vasconcellos, R.S.; Oliveira, L.D.; Gomes, M.O.S.; Loureiro, B.A. and Carciofi, A.C. 2011. Digestibility and metabolizable energy of maize gluten feed for dogs as measured by two different techniques. *Animal Feed Science and Technology.* 169: 96–103.

Kienzle, E. 2002. Further developments in the prediction of metabolizable energy (ME) in pet food. *American Society for Nutritional Sciences. J. Nutr.* 132, 1796S–1798S.

Kienzle, E.; Biourge, V. and Schonmeier, A. 2006. Prediction of energy digestibility in complete dry foods for dogs and cats by total dietary fiber. *J. Nutr.* 136: 2041S–2044S.

Kienzle, E.; Opitz, B.; Earle, K.E.; Smith, P.M.; Maskell, I.E. and Iben, C. 1998a. The development of an improved method of predicting the energy content in prepared dog and cat food. *J. Anim. Physiol. and Anim. Nutr.* 79: 69-79.

Kienzle, E.; Opitz, B.; Earle, K.E.; Smith, P.M.; Maskell, I.E. and Iben, C. 1998b. An improved method for the estimation of energy in pet foods. *J Nutr.* 128: 2806S–2808S.

Kienzle, E.; Schrag, I.; Butterwick, R. and Opitz, B. 2002. Calculation of gross energy in pet foods: Do we have the right values for heat of combustion? *J. Nutr.* 132: 1799S-1800S.

Kritchevsky, D. 1988. Dietary fiber. *Annual Review of Nutrition.* 8: 301-328.

Larsson, C.; Vitger, A.; Jensen, R.B.; Junghans, P. and Tauson, A.H. 2014. valuation of the oral ¹³C-bicarbonate technique for measurements of energy expenditure in dogs before and after body weight reduction. *Acta Veterinaria Scandinavica.* 56: 87-101.

Lima, D.C.; Netto, M.V.T.; Felix, A.P.; Bortolo, M.; Oliveira, S.G. and Maiorka, A. 2014. Digestibilidade e energia metabolizável da glicerina em cães. *Ciência Rural.* 44: 1452-1456.

Lindemann, M.D.; Quant, A.D.; Monegue, J.S.; Wang, M.; Cromwell, G.L. and Newman, M.C. 2010. Evaluation of antibiotic effects on phosphorus digestibility and utilization by growing-finishing pigs fed a phosphorus-deficient, corn-soybean meal diet. *J. Anim. Sci.* 88: 1752-1758.

Ly, J.; Chhay, T. and Samkol P. 2002. Studies on the use of acid insoluble ash as inert marker in digestibility trials with Mong Cai pigs. *Livestock Research for Rural Development.* 14(5). Available: <http://www.cipav.org.co/lrrd/lrrd14/5/ly145a.htm>. Accessed: December 10, 2014.

Malca, S.; Lucas, O.; Arbaiza, T.; Carcelén, F. and San Martín F. 2006. Comparación de dos técnicas para determinar la digestibilidad proteica de insumo y alimentos comerciales para caninos. *Rev. investig. vet. Perú.* 17: 96-103.

Middelbos, I.S.; Fastinger, N.D. y Fahey, Jr.G.C. 2007. Evaluation of fermentable oligosaccharides in diets fed to dogs in comparison to fiber standards. *J. Anim. Sci.* 2007. 85:3033–3044

Miles, C.W. 1992. The metabolizable energy of diets differing in dietary fat and fiber measured in humans. *The Journal of Nutrition.* 122: 306-11.

Mroz, Z.; Bakker, G.C.M.; Jongbloed, A.W.; Dekker, R.A.; Jongbloed, R. and Beers A. 1996. Apparent digestibility of nutrients with different energy density, as estimated by direct and marker methods for pigs with or without ileo-cecal cannulas. *J. Anim. Sci.* 74: 403.

Muir, H. E.; Murray, S.M.; Fahey, Jr. G.C.; Merchen, N.R. and Reinhart. G. A. 1996. Nutrient digestion by ileal cannulated dogs as affected by dietary fibers with various fermentation characteristics. *J. Anim. Sci.* 74:1641–1648.

NRC. 1985. National Research Council. Nutrient requirements of dogs and cats. Washington, DC, National Academy of Science, National Academy Press.

NRC. 2006. National Research Council. Nutrient requirements of dogs and cats. Washington, DC: National Academy Press.

Nott, H.M.R.; Rigby, S.I.; Johnson, J.V.; Bailey, S.J. and Burguer, I.H. 1994. Design of digestibility trials for dogs and cats. *J. Nutr.* 124: 2582S-2583S.

Osorio, E.; Giraldo, J. and Narváez W. 2012. Metodologías para determinar la digestibilidad de los alimentos utilizados en la alimentación canina. *Ver Zootec.* 6: 87-97.

Pinto, G.G.; Garcia, R.; Vieira, A.J.; Rodrigues, R.; Detmann, E.; Lopes, R. and Sampaio, L. 2013. Long-term bias of internal markers in sheep and goat digestion trials. *Asian-Australas J Anim Sci.* 26: 65–71.

Pond, W.G.; Church, D.C. and Pond, K.R. 2005. Basic animal nutrition and feeding. 5^a ed. United States of America: John Wiley & Sons. 608 pp.

Prosky, L.; Asp, N.G.; Furda, I.; De Vries, J.W.; Schweizer, T.F. and Harland, B. 1985. The determination of total dietary fiber in foods, food products: collaborative study. J. Assoc. Off. Anal. Chem. 68: 677–679.

Roediger, W.E. 1982. Utilization of nutrients by isolated epithelial cells of the rat colon. Gastroenterology. 83: 424-429

Sabchuk, T.T.; Portella A.; Grigoletto, J.; Guimarães, L.; Gisele de Oliveira, S. and Maiorka, A. 2012. Digestibility and behavior of dogs housed in kennels or metabolic cages. R. Bras. Zootec. 41: 118-122.

Sales, J.; Schutter, L. and Janssens, G.P.J. 2004. The use of internal markers to determine metabolizable energy and digestibility of diets in the african grey parrot (*Psittacus erithacus*). Vlaams Diergeneeskundig Tijdschrift. 73: 176-181.

Sallander, M.; Hagberg, M.; Hedhammar, A.; Rundgren, M. and Lindberg, J.E. 2010. Energy-intake and activity risk factors for owner-perceived obesity in a defined population of Swedish dogs. Preventive Veterinary Medicine. 96: 132-141.

Sands, J.S.; Ragland, D.; Baxer, C.; Joern, B.C.; Sauber, T.E. and Adeola, O. 2001. Phosphorus bioavailability, growth performance, and nutrient balance in pigs fed high available phosphorus corn and phytase. J. Anim. Sci. 79: 2134-2142.

Schneider, H. and Flatt, W.P. 1975. The Evaluation of feeds through digestibility experiments, University of Georgia Press, Athens, GA. 107-168 pp.

Serisier, S.; Weber, M.; Feugier, A.; Fardet, M.O.; Garnier, F.; Biourge, V. and German, A.J. 2013. Maintenance energy requirements in miniature colony dogs. *J. Anim. Physiol. a. Anim. Nutr.* 97: 60–67.

Silvio, J., D. L. Harmon, K. L. Gross, and K. R. McLeod. 2000. Influence of fiber fermentability on nutrient digestion in the dog. *Nutrition* 16:289–295.

Spangenberg, E. 2007. Housing laboratory dogs and rats: implications of physical and social activity. Uppsala, Sweden: Swedish University of Agricultural Sciences. 58 pp.

Stein, H.H., Adeola, O., Cromwell, G.L., Kim, S.W., Mahan, D.C., Miller, P.S., 2011. Concentration of dietary calcium supplied by calcium carbonate does not affect the apparent total tract digestibility of calcium, but decreases digestibility of phosphorus by growing pigs. *J. Anim. Sci.* 89: 2139-2144.

Trowell, H., 1972. Ischemic heart disease and Dietary Fibre. *Amer. J. Clin. Nutr.* 25, 926-932

Twedt, D.C. 1993. Dietary fiber in gastrointestinal disease. In: Proceedings. Eleventh Annual Veterinary Medical Forum.

Van Soest, P.J. 1973. The uniformity and nutritive availability of cellulose, *Fed Proc.* 32: 1804-1808.

Wichert, B.; Liesegang, A. and Hartnack, S. 2014. Estimating energy losses with urine in the cat. *J. Anim. Physiol. a. Anim. Nutr.* 98, 628–635.

Zentek, J., 1993. Studies on the effect of feeding on the microbial metabolism in the intestinal tract of dogs.

CAPÍTULO 2.

El siguiente capítulo busca dar cumplimiento al objetivo específico 1 del trabajo de tesis.

Total Collection vs Indicator Method to determine apparent digestibility in dogs

Comparación de los métodos de Colecta Total e Indicador para determinar la digestibilidad aparente en perros

Juan C. Duque-Saldarriaga^{1,2}, Zoot, MSc(c); Sandra L. Posada-Ochoa², Zoot, Dr.Sc.; Jorge H. Agudelo-Trujillo², Zoot, PhD; Luis M. Gómez-Osorio^{1,2}, MVZ, MSc, Dr.Sc(c).

¹*Grupo de Investigación y Desarrollo Nutri-Solla, SOLLA S.A (Código Postal 1272), Itagüí, Colombia.*

²*Grupo de Investigación en Ciencias Agrarias (GRICA), Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad de Antioquia (Código Postal 1226), Medellín, Colombia.*

Resumen

Introducción: La digestibilidad aparente (DA) permite valorar la absorción de los nutrientes. La colecta total de heces (CT) es el método de referencia para calcular la digestibilidad, siendo más laboriosa que el método del indicador (MI), consistente en suministrar vía oral un indicador indigestible que luego se cuantifica en las heces. En caninos no existe información sobre el número de días de muestreo requerido por el MI para obtener resultados comparables a la CT. *Objetivo:* Comparar los resultados de DA obtenidos por CT y el MI variando el número de días de colecta. *Metodología:* El estudio se realizó en el Centro de Investigaciones Caninas de la empresa Solla S.A. (Antioquia, Colombia), utilizando 11 machos Labrador Retriever cuya edad y peso promedio fue 2 ± 0.6 años y 32.1 ± 4.8 kg. Se suministró óxido de cromo (Cr_2O_3)

en el alimento (0,1%) dos veces/d durante 14 d (7 d de adaptación y 7 d de CT) e índigo carmín (0.1% del alimento) como marcador visual de las heces a colectar. Los perros se alojaron en jaula metabólica y tuvieron acceso a grama natural dos veces por día para facilitar la defecación. Del total de heces colectadas, diariamente se tomó una muestra destinada al análisis del indicador. Estas muestras se mezclaron, obteniendo una combinación de los 3 (MI3), 4 (MI4), 5 (MI5) y 6 (MI6) primeros d de muestreo, o del período completo (MI7). La digestibilidad de la materia seca (DMS), energía bruta (DEB), proteína cruda (DPC) y fibra cruda (DFC) obtenida por CT (7 d) se comparó de manera pareada con la DA obtenida por el MI. *Resultados:* La prueba t de Student no encontró diferencia estadística ($p>0.05$) en la DMS (82.4%), DEB (87.2%), DPC (81.3%) y DFC (8.9%) obtenida por CT y el MI para las combinaciones MI5, MI6 y MI7, que promediaron 82.7 (DMS), 87.3 (DEB), 81.6 (DPC) y 9.3% (DFC). Los menores valores del cuadrado medio del error de predicción (CMEP), error de predicción relativo (EPR) y error porcentual absoluto medio (EPAM) se obtuvieron para MI7, período de colecta que resultó en el mayor coeficiente de correlación de concordancia (CCC). La DFC presentó gran variabilidad y de acuerdo con CMEP, EPR y EPAM, el MI no es un buen predictor de la misma. *Conclusión:* El análisis integral de los hallazgos del presente estudio (igualdad de medias, EPR, EPAM y CCC) conducen a recomendar el MI en reemplazo del método tradicional de CT, siempre y cuando las muestras fecales correspondan a 7 d de muestreo. Igualmente, deberán evaluarse otros métodos de análisis de la fracción fibrosa que generen menor dispersión en los valores de DA y mayor bondad de ajuste respecto la metodología tradicional de CT.

Palabras clave: Canino, marcador, jaula metabólica, muestra compuesta, óxido de cromo.

Introducción

La colecta total (CT) de heces es el método de referencia para determinar la digestibilidad aparente (DA) de la dieta en perros y otras especies animales. Es un

método que implica confinar individualmente los animales en jaulas metabólicas (JM) para hacer posible la colecta fecal y evitar una posible contaminación de las heces con la orina. Sin embargo, la restricción de movimientos y el limitado espacio disponible dentro de la jaula compromete el bienestar animal (Broom and Molento, 2004). Otra metodología ampliamente utilizada es el método del indicador externo (MI) (Adeola, 2001), que consiste en suministrar vía oral un indicador indigestible, inerte y recuperable en la materia fecal (MF). El óxido crómico (Cr_2O_3) es un compuesto comúnmente utilizado como indicador. Con el MI se pueden alojar los perros en caniles, en lugar de jaulas metabólicas, brindándoles mayor bienestar. La digestibilidad se calcula relacionando la concentración del nutriente y del indicador en el alimento y las heces, siendo necesario obtener una muestra representativa de las mismas. Una sola muestra de heces, tomada aleatoriamente en uno de los días de muestreo, puede no ser representativa y, para obtener resultados más precisos se requieren varios días de colecta hasta que la concentración del marcador se estabilice (Agudelo et al., 2010). Establecer el número mínimo de días a colectar, que permita obtener un valor de DA que sea comparable al de CT es un aspecto metodológico aún no evaluado en caninos. La literatura más reciente (Kavanagh et al., 2001; Agudelo et al., 2010; Jang et al., 2014) ha centrado sus estudios en la especie porcina. Diferencias en fisiología digestiva entre cerdos y perros pueden impedir la extrapolación de resultados de una especie a otra. Perros con una longitud corporal de 0.75 m tienen una longitud intestinal promedio de 4.5 m, donde la mayoría de la digestión enzimática ocurre en el intestino delgado (3.9 m) (NRC, 2006). En los cerdos, la longitud promedio del intestino delgado es 15-22 m (Dicksved et al., 2010). La longitud intestinal determina la cantidad de alimento que reside en el intestino y por tanto, la duración de la digestión (NRC, 2006). Igualmente, el movimiento de la digesta a través del intestino delgado es influenciado por las características físicas y nutricionales de la dieta (NRC, 2006), las cuales difieren entre ambas especies animales. El objetivo de este estudio fue comparar los resultados de DA obtenidos por CT y el MI variando el número de días de colecta fecal

Materiales y Métodos

Los procedimientos experimentales fueron aprobados por el Comité de Ética para la Experimentación con Animales de la Universidad de Antioquia (Medellín-Colombia). Durante el período experimental, los perros estuvieron bajo la supervisión de un médico veterinario, quien diariamente valoró temperatura corporal, frecuencia cardíaca, frecuencia respiratoria, coloración de mucosas y llenado capilar en encías.

Animales y condiciones de alojamiento

Se utilizaron once caninos, machos enteros, de raza Labrador Retriever, con peso corporal inicial promedio de 32.1 ± 4.8 kg y edad media de 2 ± 0.6 años. Los animales de un tratamiento (CT) respecto al tratamiento de contraste (MI) fueron los mismos. El trabajo se realizó en el Centro de Investigaciones Caninas de la Empresa Solla S.A., ubicado en el municipio de Rionegro (Antioquia, Colombia). Esta zona presenta temperatura promedio de 17°C , humedad relativa del 75%, precipitación anual de 2280 mm y altura sobre el nivel del mar de 2125 m, correspondiente a un bosque muy húmedo montano bajo (bmh-MB) (Holdridge, 2000).

La adaptación de los perros a las JM (0.7 de largo x 0.6 de alto x 0.5 m de ancho) se realizó durante los seis meses que antecedieron la fase experimental. Para tal efecto los animales se alojaron repetidamente por periodos no superiores a cinco días consecutivos. Durante esa etapa se observaron cambios en el comportamiento, pisoteo de la MF, irregularidad en la defecación y disminución en el consumo. Esta situación obligó a ajustar la metodología tradicional de CT de heces, así: los perros se alojaron en JM durante las noches, y dos veces por día (06:20 y 16:20 h) fueron sacados de las jaulas durante 40 minutos (cada animal en cada horario) y llevados a un lugar contiguo con piso en grama para estimular la defecación. Al momento de la defecación se realizó la CT de heces utilizando bandeja plástica (50 cm largo x 30 cm de ancho) que se ubicaba bajo el ano del animal.

Las JM se dispusieron en un cuarto con iluminación natural (12 h de luz y 12 h de oscuridad), donde se instalaron calentadores de aire automáticos y cortinas laterales de plástico. La temperatura media del lugar fue 18.1 ± 4.3 °C y la humedad relativa media fue de $70.5 \pm 17.3\%$.

Nutrición y alimentación

Los perros se alimentaron dos veces al día (06:00 y 16:00 h) con alimento extruido. La cantidad suministrada fue 20% mayor a la requerida para satisfacer los requerimientos diarios de energía metabolizable para el mantenimiento (EM_m) ($\text{kcal} \cdot \text{día}^{-1}$), calculados a partir de la ecuación: $EM_m (\text{kcal} \cdot \text{día}^{-1}) = 130 \cdot PC^{0.75}$ (NRC, 2006), donde PC es el peso corporal del perro (kg) determinado el día previo al inicio del trabajo experimental. El aporte de EM del alimento ($\text{kcal} \cdot \text{kg}^{-1}$) se estimó a partir de la concentración de energía bruta (EB) determinada en bomba calorimétrica (Model C5000, IKA®, Germany) y de las ecuaciones propuestas por el NRC (2006), en las cuales la energía digestible (ED) y las pérdidas de energía en orina (E_u) corresponden a $[ED = EB \cdot DEB/100; DEB = 91.2 - (1.43 \cdot \%FC)]$ y $[E_u = 1.04 \cdot PC]$, respectivamente (DEB, digestibilidad de la EB; FC, fibra cruda; PC, proteína cruda). La cantidad de alimento suministrado correspondió a la relación entre el requerimiento de EM ($\text{kcal} \cdot \text{día}^{-1}$) y la densidad energética de la dieta ($\text{kcal} \cdot \text{kg}^{-1}$). Se suministró agua de bebida *ad libitum*.

Descripción química del alimento

El alimento se molió a 1 mm (molino Thomas-Wiley; Arthur H. Thomas Co., Philadelphia, PA, USA) para el análisis de materia seca (MS) (ICONTEC, 2000; NTC 4888), PC (ICONTEC, 1999; NTC 4657), extracto etéreo (EE) (ICONTEC, 2001; NTC 4969), material inorgánico (MI) (ICONTEC, 2007; NTC 4648), FC (AOAC, 1996; método 978.10), calcio (Ca) (ICONTEC, 1998; NTC 302), fósforo (P) (ICONTEC, 2001; NTC 4981) y EB (ISO, 1998; método 9831). El extracto libre de nitrógeno (ELN) se obtuvo mediante la ecuación $ELN = 100 - (PC + EE + MI + FC)$. La composición analizada del alimento se presenta en la Tabla 1.

Tabla 1. Ingredientes y composición química analizada de la dieta.

<i>Ingredientes (%)</i>	
Maíz	40.3
Proteína animal ¹	18.5
Arroz	18.0
Aceite animal ²	7.8
Gluten de maíz	5.7
Palatabilizante	2.5
Yuca	2.0
Cascarilla de soya	1.5
Pulpa de remolacha	1.0
Premezcla vitamínica-mineral ³	2.8
<i>Composición química (%)⁴</i>	
MS	91.6
PC	22.7
EE	13.7
MI	7.4
FC	1.9
ELN	54.3
Ca	1.12
P	1.00
EB (kcal/kg MS)	4904

¹ Proteína animal: Mezcla de vísceras de pollo, harina de carne bovina y harina de pescado.

² Aceite animal: Mezcla de aceite de pollo y aceite de pescado.

³ Premezcla vitamínica-mineral. Contenido por kg de premezcla: vitamina A, 738.93 g; vitamina D₃, 6.36 g; vitamina E, 80.74 UI; vitamina K, 0.71 mg; tiamina, 7.14 mg; riboflavina, 3.57 mg; ácido pantoténico, 10.71 mg; niacina, 17.86 mg; piridoxina, 2.14 mg; biotina, 0.21 mg; cianocobalamina, 0.01 mg; ácido fólico, 0.94 mg; manganeso, 26.8 mg; hierro, 97 mg; cobre, 12.5 mg; cobalto, 3.12 mg; zinc, 138 mg; yodo, 2.05 mg; selenio, 0.25 mg.

⁴ MS, materia seca; PC, proteína cruda; EE, extracto etéreo; MI, material inorgánico (cenizas); FC, fibra cruda; ELN, extracto libre de nitrógeno; Ca, calcio; P, fósforo; EB, energía bruta. Valores expresados en el 100% de la MS.

Suministro de indicador y marcador

Se utilizó óxido de cromo (Cr_2O_3 ; Fisher Scientific, FairLawn, NJ, USA) e índigo carmín (Sigma-Aldrich, Saint Louis, MO, USA) como indicador y marcador, respectivamente, en dosis de $1 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ del alimento ofrecido (0.1%). La concentración de cromo (Cr) del indicador fue 70.55%. El Cr_2O_3 se suministró continuamente durante 14 días: los primeros siete (7) días correspondientes al período de adaptación y los últimos siete (7) días al período de colecta fecal. El Cr_2O_3 se suministró en cápsulas de gelatina al momento de la alimentación. El índigo carmín se adicionó al alimento en la primera y última ración del periodo de colección con el fin de determinar visualmente el inicio y final de la colecta fecal.

Procedimiento de colecta y análisis químico de las heces

Diariamente, durante los siete (7) días de colecta, se registró el peso del total de las heces producidas por cada perro. Las muestras se almacenaron en bolsas plásticas debidamente identificadas a -20°C para su posterior análisis de humedad y determinación del total de MS excretada. Diariamente, también se tomó una muestra fecal de cada animal para la obtención de muestras compuestas destinadas al análisis por el método del indicador. Las muestras compuestas correspondieron a la mezcla de alícuotas de los primeros tres (MI3), cuatro (MI4), cinco (MI5), seis (MI6) y siete (MI7) días de colecta. Todas las muestras se secaron en estufa de ventilación forzada (55°C por 72 h; Vilab, Medellín, Colombia) para determinar MS parcial y posteriormente se molieron a 1 mm (molino Thomas-Wiley; Arthur H. Thomas Co., Philadelphia, PA, USA) para su análisis químico. Se determinó MS total (secado a 105°C por 4 h; Vilab, Medellín, Colombia), PC (ICONTEC, 1999; NTC 4657), FC (AOAC, 1996; método 978.10), EB (ISO, 1998; método 9831) y Cromo (Cr) (Williams et al., 1962). También se determinó la concentración de cromo en el Cr_2O_3 .

Determinación de la digestibilidad aparente

La digestibilidad aparente de la materia seca (DMS), energía bruta (DEB), proteína cruda (DPC) y fibra cruda (DFC) se determinó por el método de CT (7 d) y por el MI para los diferentes períodos de colecta evaluados (MI3, MI4, MI5, MI6 y MI7). La DA

por CT se determinó a partir de la ecuación: $DA (\%) = \left(\frac{\text{Nutriente consumido (g)} - \text{Nutriente en las heces (g)}}{\text{Nutriente consumido (g)}} \right) * 100$ (Lôbo et al., 2001). La DA por el MI se calculó con la ecuación descrita por Schneider y Flatt (1975), a saber: $DA (\%) = 100 - \left(\left(\frac{\text{Recuperación del indicador (\%)}}{\text{Indicador (\%)}} \right) \left(\frac{\text{Indicador consumido (\%)}}{\text{Indicador en las heces (\%)}} \right) \left(\frac{\text{Nutriente en las heces (\%)}}{\text{Nutriente consumido (\%)}} \right) \right)$. La recuperación del indicador (RI) se obtuvo a partir de la ecuación: $RI (\%) = \left(\frac{\text{Indicador en las heces (g/d)}}{\text{Indicador consumido (g/d)}} \right) * 100$ (Carciofi et al., 2007). La cantidad de indicador en las heces se obtuvo del producto: (MS fecal excretada (g) * concentración cromo en las muestras fecales (g/g MS fecal)).

Análisis estadístico

Se comparó la exactitud de la DA de los diferentes componentes (DMS, DEB, DPC, DFC) obtenida por el MI en cada uno de los períodos de colecta evaluados (MI3 a MI7) vs. la obtenida por el método de CT de heces. La CT representó el método de referencia. El análisis incluyó la prueba T de Student para datos pareados y la determinación del coeficiente de correlación de concordancia (CCC), cuadrado medio del error de predicción (CMEP), error de predicción relativo (EPR), y error porcentual absoluto medio (EPAM).

Prueba T de Student pareada. En este estadístico de contraste, \bar{Y}_C es la media de las diferencias entre los valores pareados. S_{yc} es la desviación estándar de esas diferencias e I es el tamaño de la muestra. Se asumen diferencias significativas con un $\alpha \leq 0.05$. Previamente se evaluó el supuesto de normalidad bivariada para los datos. Matemáticamente corresponde a: $t = \frac{(\bar{Y}_C)}{\frac{S_{yc}}{\sqrt{I}}}$ (Cerón-Muñoz et al., 2013).

Coeficiente de correlación de Pearson (CCP). Midió la relación lineal entre la DA obtenida por CT y la DA obtenida por el MI. Correspondió a la relación: $CCP = \frac{\sigma_T^2}{\sqrt{(\sigma_A^2 + \sigma_T^2)(\sigma_B^2 + \sigma_T^2)}}$; donde σ_T^2 es la covarianza, σ_A^2 es la varianza de la DA obtenida por CT, σ_B^2 es la varianza de la DA obtenida por MI (Altman and Bland, 1983).

Cuadrado medio del error de predicción (CMEP). Con este estimador se midió la varianza del error de predicción, obtenido a partir de la diferencia entre A y P (González, 1992). Matemáticamente corresponde a: $CMEP = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n (A_i - P_i)^2$, donde A es DA determinada por el método de CT, P es la DA determinada por el MI (MI3, MI4, MI5, MI6, MI7) y, n es el número de pares de valores de A y P que se comparan (Baudracco et al. 2013). El valor obtenido corresponde a la suma del sesgo medio (SM), la diferencia en la magnitud de fluctuación (DMF) y la falta de correlación positiva entre los valores de DA obtenidos por CT y MI ponderados por sus desviaciones estándar (FCDE). Las ecuaciones que permiten estimar estos datos son: $SM = (XA_i - XP_i)^2$; $DMF = (SA_i - SP_i)^2$; $FCDE = 2(SA_i * SP_i)(1 - (CCP))$; donde CCP corresponde al coeficiente de correlación de Pearson (Magalhães et al., 2010).

Error de predicción relativo (EPR). Corresponde a la relación entre la raíz cuadrada del CMEP y la media de los valores de DA obtenida por el método de CT (A). Un EPR inferior al 10% indica una predicción satisfactoria; entre 10-20%, predicción aceptable y, mayor a 20%, predicción baja (Fuentes et al., 1996; Baudracco et al. 2013).

Error porcentual absoluto medio (EPAM). Permite medir el tamaño del error (absoluto) de la estimación de la DA en términos porcentuales. Matemáticamente corresponde a: $EPAM = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n \left| \frac{A_i - P_i}{A_i} \right|$ (Ren y Glasure, 2009). Valores de EPAM inferiores al 10% indican una predicción satisfactoria (Gisele, 2007; Mayer y Butler, 1993).

Coefficiente de correlación de concordancia (CCC). Permite evaluar la intercambiabilidad entre los dos métodos de determinación de DA (CT y MI) (Lin, 1989) a partir de la ecuación $CCC = \rho \times Cb$, donde ρ es el coeficiente de correlación de Pearson, que refleja la precisión, y Cb es el factor de corrección de sesgo, que refleja exactitud; es decir, hasta qué punto la línea de regresión empezando desde el

origen se ajusta a 45°. Un CCC menor a 0.20 se considera bajo, entre 0.21-0.40, justo; entre 0.41-0.60, moderado; entre 0.61-0.80, sustancial y, entre 0.81-1.00, casi perfecto (Baudracco et al., 2013).

Resultados

Peso corporal y estado de salud de los animales.

El peso corporal y las variables fisiológicas de los perros, a saber, temperatura corporal, frecuencia cardíaca, frecuencia respiratoria, coloración de la mucosa y llenado capilar se presentan en la Tabla 2. Los datos de las variables fisiológicas corresponden al promedio de los 14 días del período experimental.

Tabla 2. Peso corporal y variables fisiológicas de las unidades experimentales.

Variable	Media±DE ¹	Valor de referencia
Peso inicial (kg)	32.1±4.8	
Peso final (kg)	32.8±4.4	29.5-36.4*
Temperatura corporal (°C)	38.1±0.2	38.0 – 39.0**
Frecuencia cardíaca (latidos/minuto)	99.2±4.6	70-120**
Frecuencia respiratoria (respiraciones/minuto)	22.4±1.3	15-30**
Coloración de la mucosa ²	1	Rosada**
Llenado capilar (segundos)	1	1-3**

*AKC (1994); **Buritica et al., 2009

¹DE = Desviación estándar

² Valorados en escala de 1 a 5, donde 1, rosada; 2, pálida; 3, congestiva; 4, icterica; 5, cianótica.

Consumo de materia seca y de nutrientes.

El consumo de MS, PC, FC y EB se presenta en la Tabla 3. El coeficiente de variación fluctuó entre 6.8 y 10.9%, último valor correspondiente a los siete días de medición. La tendencia registrada en el consumo de MS se observó en el consumo de los demás componentes de la dieta. El consumo promedio a partir de los seis días de medición se mostró inferior a los consumos de los primeros cinco días.

Tabla 3. Consumo de materia seca y de nutrientes en los diferentes períodos de colecta evaluados (MI3 a MI7)

Consumo ¹	MI3	MI4	MI5	MI6	MI7
CMS, g/d	534.3±38.1	531.7±38.2	533.0±36.2	527.0±47.0	522.2±56.8
CPC, g/d	121.3±8.7	120.7±8.7	121.0±8.2	119.6±10.7	118.5±12.9
CFC, g/d	10.2±0.7	10.1±0.7	10.1±0.7	10.0±0.9	9.9±1.1
CEB, kcal/d	2620.3±186.9	2607.4±187.9	2613.6±177.5	2584.6±230.5	2560.9±278.5
CEM, kcal/d ²	2190.6±156.3	2179.8±157.1	2185.0±148.4	2160.7±192.7	2140.9±232.8

¹CMS, consumo de materia seca; CPC, consumo de proteína cruda; CFC, consumo de fibra cruda; CEB, consumo de energía bruta; CEM, consumo de energía metabolizable (los valores corresponden a la media± la desviación estándar).

² Estimado desde las ecuaciones propuestas por el NRC (2006), en función del contenido de FC y PC del alimento.

Recuperación fecal del indicador

En la Tabla 4 se muestra la recuperación del cromo en las muestras fecales obtenidas en los diferentes períodos de colecta evaluados (MI3, MI4, MI5, MI6 y MI7). Con excepción de la muestra fecal correspondiente a los primeros cuatro días de colecta (MI4), el porcentaje de recuperación incrementó conforme se aumentó el número de días de muestreo. El porcentaje de recuperación para MI3 y MI4 presentó diferencias estadísticas respecto MI7 ($P<0.05$). El coeficiente de variación (CV) fluctuó entre 4.0 y 6.6%, mostrando un comportamiento decreciente a medida que aumentaron los días de colecta. El CV para el consumo de cromo varió entre 2.5 y 4.3% y para la excreción del elemento entre 5.1 y 8.0%. En las demás variables evaluadas no se registraron diferencias estadísticas ($P>0.05$).

Determinación de la digestibilidad aparente.

Los valores de DMS, DEB, DPC y DFC obtenidos por el método de CT y el MI (MI3 a MI7) se muestran en la Tabla 5. Para todos los componentes evaluados se presentó diferencia significativa ($p < 0.05$) en la DA determinada por CT (método de referencia) y la obtenida por el MI para los primeros tres y cuatro días de muestreo (MI3 y MI4). Los CV de los valores promedios de DA no superaron el 2%, con excepción de la DFC, cuyos CV oscilaron entre 41.0 y 57.5%.

Tabla 4. Recuperación del indicador en las muestras fecales correspondientes a los diferentes períodos de colecta evaluados (MI3 a MI7)

Variable ¹	MI3	MI4	MI5	MI6	MI7
<i>Consumo de cromo, g</i>					
Por día	0.40±0.01	0.40±0.01	0.40±0.01	0.40±0.01	0.40±0.02
<i>Excreción de MS, g</i>					
Por día	88.0±10.9	87.9±9.2	91.0±7.3	90.6±8.6	92.1±11.0
<i>Concentración fecal de cromo, %</i>					
	0.394±0.04	0.388±0.04	0.393±0.03	0.397±0.04	0.398±0.04
<i>Excreción de cromo, g</i>					
Por día	0.34±0.11	0.34±0.09	0.36±0.07	0.36±0.06	0.36±0.05
<i>Recuperación (%)</i>	84.1±5.6b	83.0±5.1b	87.2±5.2ab	87.7±4.3ab	89.6±3.6a

¹ Los valores corresponden a la media± la desviación estándar.

Tabla 5. Digestibilidad aparente de la materia seca (DMS), energía bruta (DEB), proteína cruda (DPC) y fibra cruda (DFC) determinadas por los métodos colecta total (CT) de heces y del indicador (MI)

Respuesta	Media±DE ¹					
	CT	MI3	MI4	MI5	MI6	MI7
DMS (%)	82.4±0.5 b	83.5±1.1 a	83.4±1.1 a	82.9±1.0 b	82.8±0.8 b	82.3±0.8 b
DEB (%)	87.2 ±0.5 b	88.0±0.8 a	87.9±0.9 a	87.5±0.7 b	87.4±0.6 b	87.1±0.8 b
DPC (%)	81.3±1.1 b	82.6±1.1 a	82.6±1.2 a	81.9±1.1 b	81.6±1.4 b	81.2±1.3 b
DFC (%)	8.9±5.0 b	15.8±6.5 a	15.5±7.5 a	9.3±3.8 b	9.9±5.7 b	8.8±4.9 b

¹ DE= Desviación estándar

a, b Letras diferentes en la misma fila indican diferencia estadística significativa entre la digestibilidad obtenida por CT vs. el MI en los diferentes períodos de colecta evaluados ($p < 0.05$).

Validación del método del indicador.

En la Tabla 6 se presentan los criterios de bondad de ajuste de la DMS, DEB, DPC y DFC determinada por el MI (MI3 a MI7) en relación con los valores obtenidos por el método de CT. Se observa que el CCC más bajo se obtuvo para MI5 y el mayor para MI7, con excepción de la DFC, donde el menor CCC se registró para MI6. Para el MI7 se obtuvieron los menores valores del CMEP, EPR y EPAM. Contrariamente, los mayores valores se obtuvieron para MI3 y MI4, con excepción de la DFC, donde el mayor EPAM se obtuvo para MI6.

En general, todos los estimadores registraron valores de EPR y EPAM inferiores al 10% para la DMS, DEB y DPC, excepto para la DFC, donde los valores obtenidos superaron en gran medida el valor objetivo (<10%).

Tabla 6. Bondad de ajuste de la digestibilidad aparente determinada por el método del indicador (MI) vs. colecta total de heces

Criterio¹	MI3	MI4	MI5	MI6	MI7
<i>DMS</i>					
CCP	0.65	0.59	0.14	0.30	0.53
CMEP	2.03	1.92	1.36	0.71	0.43
SM	1.39 (68.6)	1.16 (60.2)	0.27 (19.9)	0.17 (23.3)	0.00 (0.1)
DMF	0.30 (14.8)	0.35 (18.4)	0.28 (20.8)	0.07 (9.5)	0.09 (21.3)
FCDE	0.34 (16.6)	0.41 (21.4)	0.81 (59.3)	0.48 (67.3)	0.33 (78.5)
EPR (%)	1.73	1.68	1.42	1.02	0.79
EPAM (%)	1.53	1.54	1.24	0.92	0.59
CCC	0.23	0.23	0.08	0.22	0.47
<i>DEB</i>					
CCP	0.72	0.63	0.31	0.52	0.74
CMEP	1.06	1.04	0.61	0.32	0.23
SM	0.76 (71.6)	0.62 (59.0)	0.12 (19.8)	0.07 (23)	0.00 (0.2)
DMF	0.12 (11.1)	0.16 (15.5)	0.07 (12.1)	0.02 (5.3)	0.07 (30.0)
FCDE	0.18 (17.4)	0.27 (25.5)	0.42 (68.1)	0.23 (71.7)	0.16 (69.7)
EPR (%)	1.18	1.17	0.90	0.65	0.55
EPAM (%)	1.04	1.06	0.81	0.56	0.41
CCC	0.31	0.30	0.24	0.44	0.66
<i>DPC</i>					
CCP	0.48	0.60	0.19	0.85	0.83
CMEP	2.81	2.60	2.14	0.66	0.49
SM	1.78 (63.3) ²	1.68 (64.7)	0.46 (21.6)	0.13 (19.9)	0.00 (0.2)
DMF	0.00 (0.1)	0.03 (1.1)	0.01 (0.4)	0.14 (20.9)	0.08 (15.6)
FCDE	1.03 (36.6)	0.89 (34.2)	1.67 (77.9)	0.39 (59.2)	0.42 (84.2)
EPR (%)	2.06	1.98	1.80	1.00	0.86
EPAM (%)	1.66	1.72	1.44	0.88	0.65
CCC	0.26	0.34	0.15	0.77	0.80
<i>DFC</i>					
CCP	0.34	0.45	0.47	0.11	0.73
CMEP	89.19	86.28	19.89	47.21	11.82
SM	48.12 (54.0)	43.72 (50.7)	0.23 (1.2)	1.03 (2.2)	0.00 (0.0)
DMF	2.15 (2.4)	5.62 (6.5)	1.19 (6.0)	0.45 (1.0)	0.01 (0.1)
FCDE	38.92 (43.6)	36.94 (42.8)	18.47 (92.9)	45.72 (96.9)	11.80 (99.9)
EPR (%)	106.56	104.81	50.32	77.52	38.79
EPAM (%)	162.88	184.96	99.29	204.54	36.62
CCC	0.18	0.26	0.45	0.11	0.73

¹CCP: Coeficiente de correlación de Pearson; CMEP: Cuadrado medio del error de predicción; SM: Sesgo medio; DMF: Diferencia en la magnitud de fluctuación; FCDE: Falta de correlación positiva entre los valores de DA obtenidos por CT y MI ponderados por sus desviaciones estándar; EPR: Error de predicción relativo; EPAM: Error porcentual absoluto medio; CCC: Coeficiente de correlación de concordancia.

²Valores entre paréntesis corresponden a la participación porcentual del SM, la DMF y la FCDE en el valor de CMEP.

Discusión

Consumo, peso corporal y estado de salud de los animales.

El peso corporal de los animales estuvo dentro del rango propuesto por el AKC (1994) para la raza, indicando ausencia de desnutrición u obesidad durante el desarrollo del trabajo experimental. Igualmente se observa que el peso final fue ligeramente superior al inicial (Tabla 2), dando como resultado una ganancia promedio de 50 g/animal/día, lo cual indica un balance positivo de energía durante la realización del estudio. El consumo promedio de MS y EM (Tabla 3) fue 16.3 g/d y 66.8 kcal EM/d (valores expresados por kg de peso vivo, con base en un peso medio de 32.5 kg durante el período experimental). Los consumos de MS y de EM del presente estudio fueron 22% mayores a los estimados desde el NRC (2006) para cubrir los requerimientos de EM_m. De acuerdo con la densidad energética estimada (4104 kcal EM/kg MS) (NRC, 2006), el consumo diario de MS y EM debió ser 431 g y 1769 kcal/animal, correspondiente a 13.3 g y 54.4 kcal/kg de peso vivo. La mayor oferta de MS y EM tuvo por objetivo prevenir la pérdida de peso asociada con deficiencias nutricionales durante el desarrollo de las pruebas de digestibilidad. El consumo promedio de PC fue 3.7 g/kg peso vivo/d (Tabla 3), estando dentro del rango reportado por Sallander (2001), entre 1.2 y 4.3 g/kg en animales Labrador retriever.

Durante los dos últimos días de medición, el consumo de MS de dos unidades experimentales fue menor al consumo registrado los primeros cinco días de evaluación. Esto explica la tendencia decreciente en el consumo de MS, PC, FC y EB (Tabla 3) a partir de los seis días de medición. La reducción en el consumo de alimento exhibida por estos animales posiblemente explique la reducción de peso que experimentaron durante la fase experimental, 2.6 y 21.4 g/día, no obstante este hallazgo no obedeció a problemas de salud, toda vez que las variables fisiológicas de todos los animales estuvieron dentro de los valores de referencia (Tabla 2). Desde el punto de vista estadístico, el menor consumo de MS de estos animales se vio reflejado en un mayor CV para esta variable los últimos dos días de evaluación, el cual no superó el 11% (Tabla 3).

Recuperación del indicador

El cromo en forma de óxido de cromo (Cr_2O_3), ha sido el indicador fecal más frecuentemente utilizado en monogástricos, reportando buena recuperación. Kavanagh et al., (2001) obtuvo una recuperación del 96%, Lôbo et al. (2001) del 93.7% y Moughan et al. (1991) del 96 y 85.3 %, Sin embargo, también en otros estudios se ha encontrado bajos valores de recuperación. Moore (1957) encontró una recuperación del cromo de 77.9%, Jagger et al, (1992) reportaron recuperaciones del 74.6 y 79%, Yin et al. (2000) de 81% y Hill et al, 1996 de 82.5% siendo en éstos casos valores inferiores a los registrados en el presente estudio (Tabla 4). Moughan et al. (1991) obtuvieron recuperación del 85.3 ± 6.19 con muestra compuesta de 6 d, semejante a los valores encontrados en el presente trabajo. Las diferencias entre la recuperación reportada por otros autores y las registrada en este trabajo puede obedecer a la metodología de suministro del Cr_2O_3 . Se sabe que parte del Cr_2O_3 puede perderse en el mezclado del alimento. En el presente estudio, el Cr_2O_3 (0.1% del alimento; concentración de Cr 70.55%) se suministró directamente en cápsula, garantizando su consumo total. Lôbo et al. (2001) también suministraron Cr_2O_3 en cápsulas a caninos y lograron una recuperación del indicador ligeramente superior a la del presente trabajo (93,7%), aunque con mayor variabilidad ($\pm 13,3$).

Otros factores que afectan la recuperación de cromo son la regularidad en la defecación, la representatividad de las muestras de heces y la concentración fecal del indicador. La regularidad en la defecación depende de la regularidad en el consumo de MS. Durante el período de acostumbramiento de los animales a las JM, con permanencia continua por 24 horas, se observó que el espacio reducido afectó negativamente su comportamiento, generando inapetencia, irregularidad en el consumo, en la defecación (los perros evitan defecar en el lugar de alimentación y descanso) y coprofagia. De acuerdo con Broom y Molento (2004), las condiciones de alojamiento, particularmente la dificultad en el movimiento, afectan el bienestar animal. El ajuste realizado en la metodología de alojamiento, mediante combinación

de la estadía en JM con paseos en grama dos veces por día corrigió los problemas anteriormente mencionados y permitió obtener una excreción diaria de cromo que fluctuó entre 0.34 y 0.36 g/d en los diferentes períodos de colecta evaluados (CV entre 5.1 y 8.0%) (Tabla 4). La menor variabilidad en la excreción del elemento es positiva, partiendo del hecho que el consumo de cromo también fue constante. La concentración del cromo, como porcentaje de la MS consumida, fue la misma durante los 7 d de colecta, 0.08% de la MS consumida (CV entre 5.4 y 9.3%, datos no mostrados). La estabilidad en la excreción de MS fecal (CV entre 8.0 y 12.4) e indicador se vio reflejada en la constante concentración fecal de cromo (Tabla 4). La concentración del elemento en las heces durante todo el período de colecta fue 0.39% y presentó bajos CV, entre 7.6 y 10.2%. Jang et al. (2014) también encontraron que la concentración de cromo fecal se estabilizó luego de 5 d de iniciado el consumo de Cr₂O₃. Con el ajuste en la metodología de alojamiento se logró llegar a 1.97 comidas/d y 1.86 defecaciones/d.

La variabilidad (CV) en la concentración (%) de cromo en el alimento y las heces aumentó con el incremento en el período de colecta, en tanto que la variabilidad en la excreción fecal (g/d) del elemento y en su recuperación (%) disminuyó conforme se aumentaron los días de muestreo. De acuerdo con los valores obtenidos en este trabajo, nosotros recomendamos un período de muestreo de 6 días mínimo para obtener una recuperación superior al 85% y con una variabilidad inferior al 5%.

Digestibilidad aparente

En la ecuación propuesta para calcular la digestibilidad por el MI, la recuperación del indicador es un parámetro determinante. Para igual concentración de indicador y de nutriente en el alimento y en las heces, la sobrevaloración de la recuperación conduce a la subestimación de la digestibilidad, toda vez que la concentración real del indicador en las heces (si éste se recuperara al 100%) también se subestima. En la medida en que el resultado de la relación $\left(\frac{\text{Indicador consumido (\%)}}{\text{Indicador en las heces (\%)}}\right)$ disminuya, mayor es la digestibilidad del nutriente analizado. Este resultado disminuye en la medida en que la recuperación del indicador también disminuye, por lo cual asumir una

recuperación del 100% no estará informando adecuadamente el valor de digestibilidad de las diferentes fracciones nutricionales. En el presente trabajo, el valor de recuperación específico del período de colecta evaluado (MI3 a MI7) fue utilizado para calcular la DA en los mismos intervalos de tiempo. Con base en este criterio se observó que la DA de las diferentes fracciones (MS, PC, FC, EB) fue mayor para MI3 y MI4 y menor desde MI5 (Tabla 5). Este comportamiento es contrario al reportado por otros autores (Moughan et al., 1991; Mroz et al., 1996), quienes observaron mayor DA con aumento en el número de días de muestreo.

La utilización de Cr_2O_3 en la determinación de DA fue reportada por primera vez por Lloyd y McCay (1954), quienes encontraron que los coeficientes de digestibilidad estimados por el MI son similares a los obtenidos por la CT. En el MI es fundamental obtener una muestra representativa de heces y en este sentido se han evaluado períodos de colecta entre 1 y 5 d consecutivos (Agudelo et al. 2010), e inclusive hasta por 7 d (Clawson et al., 1955) en cerdos, con resultados satisfactorios a partir de la combinación de los 5 primeros d de muestreo y del período completo 7 d, respectivamente, similar a lo observado en el presente estudio. Con base en los resultados de la prueba t (Tabla 5), períodos de colecta menores a 5 d (MI3, MI4) resultan en valores de DA que difieren estadísticamente ($p < 0.05$) de los obtenidos por CT. El presente estudio demostró que la DA obtenida por CT de heces puede ser simplificada mediante la utilización del Cr_2O_3 como indicador, con valores de digestibilidad estadísticamente equivalentes ($p > 0.05$) para los periodos MI5 a MI7, similar a lo observado en otros estudios (Kavanagh et al., 2001; Carciofi et al., 2007). Vasconcellos et al. (2007) trabajando con gatos, y Lôbo et al. (2001) con perros, encontraron valores de DMS semejantes entre CT y MI con colecta fecal de 7 d. Carciofi et al., (2006) evaluaron la digestibilidad de diferente fuentes proteicas utilizando el MI a partir de una muestra de 4 d de colecta; si bien su objetivo no fue hacer comparaciones con la CT, encontraron diferencias en digestibilidad acordes con lo esperado. Con base en los resultados obtenidos, nosotros recomendamos el MI siempre y cuando el período de muestreo tenga una duración mínima de 5 d, previa adaptación al marcador por 7 d, coincidiendo con la duración de las pruebas

de digestibilidad sugeridas por FEDIAF (2014), sólo que en este caso se reduce la labor asociada con la CT.

Llama la atención los CV asociados con la DFC (Tabla 5). La variabilidad no puede ser atribuida al método, toda vez que fue alta con CT y MI. Partiendo de la regularidad en el consumo de MS y la excreción fecal, que fue exactamente la misma para calcular la DA de todos los nutrientes, la única explicación a la dispersión en la DFC recae sobre la variable concentración de este componente en las heces (CV entre 5.6 y 9.7%). Contrariamente, los CV para el calor de combustión y la concentración de PC en las heces sólo variaron entre 1.3-1.7% y 3.9-6.3%, respectivamente (datos no mostrados). En la Tabla 5 se observa que la variación en el valor medio es menor para la DEB, consistente con la menor variación en el análisis de EB de las heces. El análisis de FC presenta limitantes asociadas con la remoción de cantidades variables de hemicelulosa y lignina (Jung 1997), lo que puede explicar la variación en el análisis químico de esta fracción en las heces. Los resultados del presente estudio llevan a proponer la utilización de otros métodos de análisis de fibra (fibra detergente neutra o fibra dietaria total) y evaluar su efecto sobre la variación en los valores de digestibilidad.

De acuerdo con Butts et al. (2006), la excreción de nutrientes en heces puede variar durante el día e incluso entre días tal como se encontró en este estudio. La excreción de MS, PC, EB y FC varió entre 8.0-12.4%, 9.0-13.3%, 8.6-12.5% y 8.0-10.4%, respectivamente, entre los diferentes períodos de colecta evaluados datos no mostrados.

Validación del método del indicador

Algunos procedimientos estadísticos no son los más adecuados para comparar métodos o evaluar si un método alternativo puede reproducir los resultados del método estándar. La prueba t test pareada es un caso típico que compara medias, pero no permite evaluar la reproducibilidad o concordancia de los resultados (Lin, 1989). Por tal motivo, en el presente estudio se utilizaron otras metodologías que

permitieron validar la utilización del MI frente a la CT (CMEP, EPR, EPAM y CCC). El CMEP está constituido por tres componentes, SM, DMF y FCDE. Para todas las fracciones nutricionales, el menor SM se asoció con menor CMEP para MI7 (Tabla 6). El SM es un indicador de la robustez de la predicción, resultando en la mínima diferencia entre los valores medios de DA determinados por CT y MI, lo que se puede observar en la Tabla 5. La DMF también es una característica positiva para reducir el CMEP, toda vez que hace referencia a la magnitud de la diferencia entre las desviaciones estándar de las dos metodologías que se comparan, sin embargo, en el presente estudio no fue tan determinante como el SM. En la Tabla 6 se puede observar que la participación porcentual del SM dentro de los tres componentes que constituyen el CMEP es máximo 0.2% para MI7, en tanto que la DMF no representó el menor porcentaje en este intervalo de evaluación. Resulta de interés comprender la magnitud del CMEP, y en este sentido, el EPR permite estimar el desvío porcentual de los datos frente a la DA determinada por CT. De acuerdo con este criterio de validación, todos los períodos de muestreo evaluados (MI3 a MI7) realizan una predicción satisfactoria de la DA ($EPR < 10\%$), excepto para el caso de la DFC. El EPAM, tomando como referente la DA obtenida por CT en cada una de las unidades experimentales, también permitió valorar la dimensión del sesgo de la DA determinada por el MI. De acuerdo con los valores obtenidos, la predicción de la DA realizada por el MI también fue satisfactoria en todos los períodos de colecta evaluados. Nuevamente la pobre predicción realizada por el MI es patente para el caso de la DFC ($EPAM > 10\%$). Con nutrientes de baja digestibilidad como la FC, los criterios de bondad de ajuste indicaron que el MI no realiza una predicción satisfactoria de la digestibilidad ni siquiera con una muestra fecal de 7 d. Similarmente, Agudelo et al. (2010) observaron que las diferencias entre métodos son mayores cuando se aplican para nutrientes de menor digestibilidad y concentración.

Si bien la prueba t de student no encontró diferencias estadísticas entre los valores de DA obtenidos por CT y aquellos determinados por el MI a partir de los 5 d de colecta (Tabla 5), se destacan los menores CCC para MI5 (DMS, DEB, DPC) y MI6 (DFC) (Tabla 6). Bajos CCC están indicando que la DA determinada con el pool de 5

y 6 d de colecta no es intercambiable con los datos de DA obtenidos por CT. De acuerdo con los resultados obtenidos, solamente el pool de 7 d de colecta presenta una concordancia sustancial (entre 0.61 y 0.80) en la DA de todos los nutrientes, excepto la MS, cuya concordancia fue moderada. En todos los casos, menores CCC se correspondieron con menores CCP, últimos que se explican por baja relación lineal entre los valores de DA obtenidos por CT y MI (menor covarianza) o por incremento en el producto de las desviaciones estándar de las metodologías comparadas. Al comparar MI5 vs. MI7, el producto de las desviaciones estándar CT* MI ($SA_i * SP_i$) fueron 0.47 vs. 0.36, 0.30 vs. 0.30 y 1.03 vs. 1.20 para DMS, DEB, DPC, respectivamente. Las covarianzas fueron 0.06 vs. 0.19, 0.10 vs. 0.22 y 0.20 vs. 1.0, respectivamente. El aumento en la covarianza está indicando que a grandes valores de DA obtenida por CT corresponden grandes valores de DA obtenida por el MI, lo que fue observado en mayor medida para MI7. En el caso de la DFC, comparando MI6 vs. MI7, se tiene 25.72 vs. 22.01 ($SA_i * SP_i$) y 2.86 vs. 16.11 (covarianza) (datos no mostrados).

Conclusiones

El análisis integral de los hallazgos del presente estudio (porcentaje de recuperación del indicador, igualdad de medias, EPR, EPAM y CCC) conducen a recomendar el MI en reemplazo del método tradicional de CT, siempre y cuando las muestras fecales correspondan a 7 d de muestreo, superando los 5 d que sugiere la literatura para pruebas de DA por CT. En futuros trabajos pueden evaluarse mayores intervalos de colecta para observar en que medida los criterios de bondad de ajuste (validación del MI) se mejoran de forma sustancial, conservando el equilibrio entre validez de los datos obtenidos y facilidad en los procedimientos conducentes a la determinación de la DA. De igual forma, deberán evaluarse otros métodos de análisis de la fracción fibrosa que generen menor dispersión en los valores de DA obtenidos y con ello mayor bondad de ajuste respecto la metodología tradicional de CT.

Bibliografía

Adeola, O.; Young, L.G.; McMillan, E.G. and Moran, E.T. 1986. Comparative protein and energy value of OAC Wintri triticale and corn for pigs, *J. Anim. Sci.*, 63:1854.

Adeola, O. 2001. Digestion and balance techniques in pigs. In: A. J. Lewis and L. L. Southern, editors. *Swine nutrition*, 2nd ed. CRC Press, Boca Raton, FL. 903–906 pp.

Agudelo, J.H.; Lindemann, M.D. and Cromwell, G.L. 2010. A comparison of two methods to assess nutrient digestibility in pigs. *Livest. Sci.* 133: 74-77.

Altman, D.G. and Bland, J.M. 1983. Measurement in Medicine: the Analysis of Method Comparison Studies. *The Statistician* 32: 307-317

AKC - American Kennel Club. 1994. Official Standard for the Labrador Retriever. 4 pp. URL: <http://cdn.akc.org/LabradorRetriever.pdf>

AOAC. 1996. Official methods of analysis. 15th ed. Association of Official Analytical Chemists, Washington, D.C. USA.

Bartges, J. and Anderson, W.H. 1997. Dietary fiber. *Vet Clin. Nutr.* 4: 25-28.

Baudracco, J.; Comeron, E.A.; Villalobos, N.L.; Romero, L.A.; Scandolo, D.; Maciel, M.; Barry, T.N. and Holmes, C.W. 2013. Effects of herbage allowance on dry matter intake, efficiency of grazing, milk yield and grazing behaviour of crossbred Holstein-Jersey dairy cows grazing alfalfa pastures. *Adv. Dairy. Res.* 2: 109.

Broom, D.M. and Molento, C.F. 2004. Bem estar animal: Conceito e questões relacionadas. *Archives of Veterinary Science.* 9: 1-11.

Bünzen, S.; Rostagno, H.S.; Lopes, D.C.; Gomes, P.C.; Hashimoto, F.A.M; Apolônio, and L.R. Borsatto, C.G. 2009. Digestibilidade aparente e verdadeira do fósforo de alimentos de origem animal para suínos. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.* 61: 4 pp.

Buriticá, E.; Barbosa, X., and Echeverry, D. 2009. Canine hepatocellular carcinoma: a case report. *Rev. MVZ Córdoba* 14(2):1756-1761.

Butts, C.A.; Moughan, P.J.; Smith, W.C.; Reynolds, G.W. and Garrick, D.J. 1993. The effect of food dry matter intake on endogenous ileal amino acid excretion determined under peptide alimentation in the 50 kg live weight pig. *J. Sci. Food Agric.*, 62: 235–243. doi: 10.1002/jsfa.2740620306

Carciofi, A.C.; Pontieri, R.; Ferreira, C.F. and Prada, F. 2006. Avaliação de dietas com diferentes fontes protéicas para cães adultos. *R. Bras. Zootec.*, 35(3): 754-760.

Carciofi, A.C.; Souza-Vasconcellos, R.; Domingues de Oliveira, L.; Brunetto, M.A.; Valério, A.G.; Sousa-Bazolli, R.; Vasconcelos-Martins-Carrilho, E.N. and Prada, F. 2007. Chromic oxide as a digestibility marker for dogs — A comparison of methods of analysis. *Animal Feed Science and Technology* 134: 273–282.

Cerón-Muñoz, M.F.; Galeano, L.F. and Restrepo, L.F. 2013. Modelación aplicada a las ciencias animales: diseño experimental, con implementación del programa R-project. Fondo Editorial Biogénesis. Universidad de Antioquia. 13 pp.

Dicksved, J.; Zhao, L. and Jansson, J.K. 2010. The human environment. In: *Environmental Molecular Microbiology*. Liu W-T, Jansson JK, eds. Great Britain: Caister Academic Press.

Fuentes, P.J.; DeLorenzo, M.A.; Beede, D.K.; Staples, C.R. and Holter, J.B. 1996. Evaluation of equations based on animal factors to predict intake of lactating Holstein cows. *J Dairy Sci* 79: 1562-1571.

Gisele, C.M. 2007. Utilización de modelos ARIMA para la vigilancia de enfermedades transmisibles. Rev Cubana Salud Pública. 33(2): 0864-3466.

González, M.P. 1992. Error cuadrático medio de predicción para modelos estructurales de series temporales. Estadística Española. 34(129): 117-135.

Hill, R.C.; Burrows, C.F.; Ellison, G.W. and Bauer, J.E. 1996. The use of chromic oxide as a marker for measuring small intestinal digestibility in cannulated dogs. J Anim Sci. 74: 1629-1634.

Holdridge, L. 2000. El Diagrama de las zonas de vida. 5ª ed. Ecología basada en Zonas de Vida. Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura, IICA, San José de Costa Rica. 13-26 pp.

Instituto Colombiano de Normas Técnicas y Certificación - ICONTEC. 1999. Alimento para animales. Determinación del contenido de nitrógeno y cálculo del contenido de proteína cruda. Método Kjeldahl. NTC 4657. Bogotá D.C.

Instituto Colombiano de Normas Técnicas y Certificación - ICONTEC. 2000. Alimentos para animales. Determinación del contenido de humedad y materia volátil. NTC 4888. Bogotá D.C.

Instituto Colombiano de Normas Técnicas y Certificación - ICONTEC. 2001. Alimentos para animales. Determinación del contenido de grasa. NTC 4969. Bogotá D.C.

Instituto Colombiano de Normas Técnicas y Certificación - ICONTEC. 2007. Alimentos para animales. Determinación de ceniza cruda. NTC 4648. Bogotá D.C.

Instituto Colombiano de Normas Técnicas y Certificación - ICONTEC. 1998. Productos químicos agrícolas. Método de ensayo para determinar el contenido de Calcio total. NTC 302. Bogotá D.C.

Instituto Colombiano de Normas Técnicas y Certificación - ICONTEC. 2001. Alimentos para animales. Determinación del contenido de fósforo. Método espectrofotométrico. NTC 4981. Bogotá D.C.

International Organization for Standardization – ISO. 1998. Animal feeding stuffs, animal products, and feces or urine -- Determination of gross calorific value -- Bomb calorimeter method. ISO 9831. Geneva, Switzerland.

Jagger, S.; Wiseman, J.; Cole, D.J.A. and Craigon, J. 1992. Evaluation of inert markers for the determination of ileal and fecal apparent digestibility values in the pig. *Br. J. Nutr.* 68: 729-739.

Jang, Y.D., Lindemann, M.D.; Agudelo-Trujillo, J.H.; Escobar, C.S.; Kerr, B.J.; Inocencio, N. and Cromwell, G.L. 2014. Comparison of direct and indirect estimates of apparent total tract digestibility in swine with effort to reduce variation by pooling of multiple day fecal samples. *Journal of Animal Science*, 92: 4566-4576.

Jung, H.J. 1997. Analysis of forage fiber and cell walls in ruminant nutrition. *J Nutr.* 127(5): 810S-813S.

Kavanagh, S.; Lynch, P.B.; O'Mara, F. and Caffrey, P.J. 2001. A comparison of total collection and marker technique for the measurement of apparent digestibility of diets for growing pigs. *Anim. Feed Sci. Technol.* 89: 49–58.

Lin, L.I.K. 1989. A concordance correlation coefficient to evaluate reproducibility. *Biometrics* 45: 255-268.

Lloyd, L.E. and McCay, C.M. 1954. The use of chromic oxide in digestibility and balance studies with dogs. *J. Nutr.* 53(4): 613-622.

Lôbo Jr., M.F.; Rezende, A.S.C.; Saliba, E.O.S. and Sampaio, I.B.M. 2001. Coeficientes de digestibilidade aparente pelos métodos de indicadores e coleta total de fezes em cães. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.*, 53(6): 691-694.

Magalhães, K.A.; Valadares-Filho S.C.; Detmann, E.; Diniz, L.L.; Pina, D.S.; Azevedo, J.A.G.; Araújo, F.L.; Marcondes MI, Fonseca, M.A. and Tedeschi, L.O. 2010. Evaluation of indirect methods to estimate the nutritional value of tropical feeds for ruminants. *Animal Feed Science and Technology*. 155:44-54

Mayer, D.G. and Butler, D.G. 1993. Statistical validation. *Ecological Modelling*. 68(1–2): 21-32. doi:10.1016/0304-3800(93)90105-2

Moore, J.H. 1957. Diurnal variations in the composition of the faeces of pigs on the diets containing chromium oxide. *Br. J. Nutr.* 11: 273-288.

Moughan, P.J.; Smith, W.C.; Schrama, J. and Smits, C. 1991. Chromic oxide and acid insoluble ash as faecal markers in digestibility studies with young growing pigs, *New Zealand Journal of Agricultural Research*. 34(1): 85-88

National Research Council - NRC. 2006. *Nutrient Requirements of dogs and cats*. Washington, DC: The National Academies Press.

Ren, L. and Glasure, Y. 2009. Applicability of the revised mean absolute percentage errors (MAPE) approach to some popular normal and non-normal independent time series. *Int Adv Econ Res*. 15: 409-420.

Sallander, M.; Hedhammar, A.; Rundgren, M. and Lindberg, J.E. 2001. Dietary intake in a dog population measured by a validated questionnaire.

Schneider, B.H. and Flatt, W.P. 1975. *The evaluation of feeds through digestibility experiments*. The University of Georgia Press. 170 pp.

Thompson, J.E. and Wiseman, J. 1998. Comparison between titanium oxide as an inert marker and total collection in the determination of digestible energy of diets fed to pigs, Proc. Br. Soc. Anim. Sci, 67: 157.

Van Leeuwen, P.; Veldman, A.; Boisen, S.; Deuring, K.; Van Kempen, G.J.; Derksew, G.B.; Verstegen, M.W. and Schaafsma, G. 1996. Apparent ileal dry matter and crude protein digestibility of rations fed to pigs and determined with the use of chromic oxide (Cr₂O₃) and acid-insoluble ash as digestive markers. British Journal of Nutrition, 76: 551-562

Vasconcellos, R.S.; Carciofi, A.C.; Oliveira, L.D.; Prada, F. and Pereira G.T. 2007. Utilização de indicadores para estimar a digestibilidade aparente em gatos. Arq. Bras. Med. Vet. Zootec. 59(2): 466-472 pp.

Williams, C.H.; David, D.J. and Lismaa, O. 1962. The determination of chromic oxide in faeces samples by atomic absorption spectrophotometry. J Agricultural Sci 59: 381-385

Yin, Y.L.; McEvoy, J.D.G.; Schulze, H. and McCracken, K.J. 2000. Studies on cannulation method and alternative indigestible markers and the effects of food enzyme supplementation in barley-based diets on ileal and overall apparent digestibility in growing pigs. Anim. Sci. 70: 63-72.

CAPÍTULO 3.

Este capítulo busca dar cumplimiento a los objetivos específicos 2 y 3 del trabajo de tesis.

Digestibility and energy content of dog food with increasing fiber levels

Digestibilidad y contenido energético de alimentos con niveles crecientes de fibra para perros

Juan C. Duque-Saldarriaga^{1,2}, Zoot, MSc(c); Sandra L. Posada-Ochoa², Zoot, Dr.Sc;
Jorge H. Agudelo-Trujillo², Zoot, Dr.Sc; Luis M. Gómez-Osorio^{1,2}, MVZ, MSc,
Dr.Sc(c).

¹Grupo de Investigación y Desarrollo Nutri-Solla, SOLLA S.A (Código Postal 1272),
Itagüí, Colombia.

²Grupo de Investigación en Ciencias Agrarias (GRICA), Facultad de Ciencias
Agrarias, Universidad de Antioquia (Código Postal 1226), Medellín, Colombia.

Resumen

El mercado de alimentos para perros viene registrando un crecimiento significativo, el cual se refleja en un amplio portafolio de productos con diferentes valores energéticos. Debido a que el alimento es la única fuente de energía para el animal, su valor nutritivo está en función de la densidad energética. Conocer la EM evita cometer errores en el racionamiento del alimento que puedan afectar adversamente la salud de los animales. Debido a la laboriosa determinación del contenido real de EM de los alimentos, se utilizan ecuaciones de predicción que pueden no ser precisas. Ecuaciones que asumen valores de energía y digestibilidad fijos para los

nutrientes y otras que involucran la digestibilidad aparente de la energía, estimándola desde el contenido de fibra cruda (FC). La fibra dietaria es uno de los factores que más influencia tiene en la densidad energética. Comercialmente, los alimentos para perros tienen entre 1 y 8% de FC, por lo cual difícilmente se podrían estimar correctamente sus valores de EM utilizando una misma ecuación. El objetivo fue determinar el efecto de la inclusión de niveles crecientes de fibra sobre la digestibilidad aparente (DA) de los nutrientes y el contenido energético de alimentos para perros. Adicionalmente, determinar la precisión y exactitud de las ecuaciones de predicción de ED y EM disponibles en la literatura, en relación con su valoración directa en jaula metabólica en los tratamientos evaluados. El estudio se realizó en el Centro de Investigaciones Caninas de la empresa Solla S.A. (Colombia), utilizando 8 machos Labrador Retriever cuya edad y peso promedio fue 1.6 ± 0.1 años y 31.8 ± 5.2 kg. Cada periodo experimental tuvo 5 d de adaptación y 5 d de CT. Los perros se alojaron en jaula metabólica y tuvieron acceso a grama natural dos veces por día para facilitar la colecta fecal y de orina. Índigo carmín (0.1% del alimento) fue utilizado como marcador visual en heces. Los tratamientos consistieron en cuatro alimentos con niveles crecientes de FC; 2, 4, 6 y 8% de la MS. La DA de la MS, EB, PC, EE, FC, FDN, FDT, ELN y MI junto con ED y EM fueron determinadas. Se observó que el incremento en los niveles de fibra no afectó en igual medida la digestibilidad de todos los nutrientes. La DPC y la DEE registraron reducciones de menor magnitud vs. los restantes nutrientes. Los resultados indican que la ED puede predecirse con bastante precisión desde el contenido de FC, FDN y FDT ($R^2 = >0.96$). La predicción de ED (kcal/kg) realizada por las ecuaciones propuestas por Gröner y Pfeffer (1997) y el NRC (2006) presentó un ajuste sustancial con los datos observados. En relación con la predicción del contenido de EM del alimento, los estimadores de sesgo evaluados le confieren un ajuste casi perfecto a la EM estimada por el NRC (2006) respecto los valores observados, lo cual no sucedió con las ecuaciones propuestas por Atwater (1902) y Atwater (1910). Se concluye que las ecuaciones propuestas por el NRC (2006) realizaron una predicción satisfactoria del contenido de ED y EM.

Palabras clave: Canino, energía metabolizable, fibra dietaria total, marcador, celulosa.

Introducción

Entre 2003 y 2013, el mercado de alimentos para perros tuvo un crecimiento del 22%, y se espera que para el 2017 se produzcan 23 millones de toneladas de alimento a nivel mundial (Euromonitor, 2014). Es tal la diversidad de productos (estándar, premium y superpremium) que, de acuerdo con el NRC (2006), la energía metabolizable (EM) puede variar entre 2800 y 4050 kcal/kg.

Todos los procesos metabólicos involucran transferencia y gasto de energía. Debido a que el alimento es la única fuente de energía para el animal, su valor nutritivo está en función de la densidad energética. Esta característica determina la cantidad de alimento que se le debe suministrar diariamente al animal y la concentración en que otros nutrientes (minerales, vitaminas) deben estar presentes para cubrir sus requerimientos. Conocer la EM evita cometer errores en el racionamiento del alimento que puedan afectar adversamente la salud de los animales (Osorio-Carmona et al., 2012), debido a que una sub o sobrestimación puede conllevar a una excesiva pérdida o ganancia de peso (Yamka et al., 2007).

Debido a la laboriosa determinación del contenido real de EM de los alimentos, se utilizan ecuaciones de predicción que pueden no ser precisas. La mayoría de las ecuaciones involucran el calor de combustión, la digestibilidad de los nutrientes y, en algunos casos, una corrección por pérdidas de energía urinaria relacionadas con el contenido de proteína. Métodos clásicos como Atwater (1902) y Atwater modificado (1910) aún son utilizados a pesar de su posible imprecisión, ya que asumen valores de energía y digestibilidad fijos para los nutrientes, desconociendo que éstos pueden variar de acuerdo con el tipo de ingredientes y las proporciones en las que se encuentren en el alimento. No obstante, los factores de Atwater modificados (Atwater, 1910) son más coherentes con las dietas actuales y si bien son aceptados

por AAFCO (2014) y FEDIAF (2014), sistemáticamente pueden subestimar el contenido de EM de los alimentos bajos en fibra y viceversa (Kienzle, 2002). Otras ecuaciones de predicción de la EM involucran la digestibilidad aparente de la energía, estimándola desde el contenido de fibra cruda (FC) del alimento (NRC, 2006). Si bien existe una correlación negativa entre la FC y la digestibilidad de la materia orgánica (NRC, 2006; Kienzle et al. 1991), su impacto no es el mismo para todos los alimentos y, dependerá del tipo ingredientes fibrosos y las proporciones en las que éstos se encuentren en el alimento (Castrillo et al., 2009). Adicionalmente, la FC no es un buen predictor del contenido real de fibra de un alimento (Bartges y Anderson, 1997). Van Soest (1973) indicó que la FC sólo cuantifica entre el 50 y el 80% de la celulosa, del 10 al 50% de la lignina y el 20% de la hemicelulosa. A pesar de ello el método de análisis de FC se continúa empleando debido a su costo menor y rapidez. Métodos más precisos para determinar el contenido de fibra del alimento, como fibra detergente neutra (FDN) (Van Soest; 1973) y fibra dietaria total (FDT) (Prosky et al. 1985), podrían hacer una mejor estimación del efecto de este nutriente sobre la digestibilidad y la densidad energética.

Comercialmente, los alimentos para perros tienen entre 1 y 8% de FC, por lo cual difícilmente se podrían estimar correctamente sus valores de EM utilizando una misma ecuación. El objetivo del presente estudio fue determinar el efecto de la inclusión de niveles crecientes de fibra sobre la digestibilidad aparente (DA) de los nutrientes y el contenido energético de alimentos para perros. Adicionalmente, determinar la precisión y exactitud de las ecuaciones de predicción de ED y EM disponibles en la literatura, en relación con su valoración directa en jaula metabólica en los tratamientos evaluados.

Materiales y Métodos

Cuidado y salud animal.

Los procedimientos experimentales aplicados en el estudio fueron aprobados por el Comité de Ética para la Experimentación con Animales de la Universidad de

Antioquia (Medellín, Colombia). Durante la ejecución del trabajo, diariamente se valoró temperatura corporal, frecuencia cardíaca, frecuencia respiratoria, coloración de la mucosa y llenado capilar en las encías.

Animales y condiciones de alojamiento.

El trabajo se realizó en el Centro de Investigaciones Caninas de la Empresa Solla S.A., ubicado en el municipio de Rionegro (Antioquia, Colombia). La zona presenta una temperatura promedio de $19.1 \pm 5.0^{\circ}\text{C}$, humedad relativa del $70.2 \pm 15.8\%$ y se encuentra a 2125 m de altura sobre el nivel del mar, lo que permite clasificarla como un bosque muy húmedo montano bajo (bmh-MB) (Holdridge, 2000). Se utilizaron ocho caninos, machos enteros, de raza Labrador Retriever, con peso corporal promedio de 31.8 ± 5.2 kg y edad media de 1.6 ± 0.1 años.

Dietas experimentales y tratamientos.

Los tratamientos consistieron de cuatro (4) alimentos extruidos con niveles crecientes de FC, a saber, 2, 4, 6 y 8% de la materia seca. La Tabla 1 presenta la composición analizada del alimento basada en los siguientes protocolos de análisis: materia seca (MS) (ICONTEC, 2000; NTC 4888), proteína cruda (PC) (ICONTEC, 1999; NTC 4657), extracto etéreo (EE) (ICONTEC, 2001; NTC 4969), material inorgánico (MI) (ICONTEC, 2007; NTC 4648), FC (AOAC, 1996; método 978.10), FDN (AOAC, 2005; método 2002.04), fibra dietaria total (FDT) (AOAC, 2016; método 985.29) y energía bruta (EB) (ISO, 1998; método 9831). El extracto libre de nitrógeno (ELN) se obtuvo mediante la ecuación $\text{ELN} = 100 - (\text{PC} + \text{EE} + \text{MI} + \text{FC})$.

Consumo de materia seca y de nutrientes.

Los perros se alimentaron dos veces al día (06:00 y 16:00 horas). La cantidad suministrada fue 36.4% mayor a la requerida para satisfacer los requerimientos diarios de energía metabolizable para el mantenimiento (EM_m) ($\text{kcal} \cdot \text{día}^{-1}$), calculados a partir de la ecuación: $\text{EM}_m (\text{kcal} \cdot \text{día}^{-1}) = 130 \cdot \text{PC}^{0.75}$ (NRC, 2006), donde PC es el peso corporal del perro (kg; determinado el día previo al inicio del periodo

de colección). El aporte adicional de alimento tuvo por objetivo evitar la pérdida de peso. El contenido de EM del alimento ($\text{kcal}\cdot\text{kg}^{-1}$) se estimó a partir de la concentración de EB determinada en bomba calorimétrica (Model C5000, IKA®, Germany) y de las ecuaciones propuestas por el NRC (2006), a saber, $[\text{ED}=\text{EB}\cdot\text{DEB}/100; \text{DEB}=91.2-(1.43\cdot\% \text{FC})]$ y $[\text{E}_o=1.04\cdot\text{PC}]$, donde ED, energía digestible; DEB, digestibilidad de la EB; E_o , pérdida energética en orina; FC, fibra cruda; PC, proteína cruda. La ración se ofreció por un periodo máximo de 20 minutos, pesando posteriormente las sobras. El consumo de MS y de nutrientes se expresaron en gramos por día (g/d) y en gramos por kilogramo de peso metabólico ($\text{g}/\text{kg PV}^{0.75}$). El agua de bebida se ofreció *ad libitum*.

Tabla 1. Ingredientes y composición analizada de las dietas experimentales.

Ingredientes (%)	Tratamientos			
	T1	T2	T3	T4
Maíz	53	47	41	36
Arroz	11	11	11	11
Proteína animal ¹	23	24	24	25
Aceite animal ²	7	7	7	7
Aditivo fibroso ³	0.0	5.5	10.1	14.6
Palatabilizante	3	3	3	3
Pulpa de remolacha molida	2	2	2	2
Premezcla vitamínica-mineral ⁴	1.2	1.2	1.3	1.3
Sal	0.5	0.3	0.3	0.3
<i>Composición química (%)⁵</i>				
MS	91.1	92.3	92.2	92.6
PC	22.9	22.2	22.3	22.0
EE	12.9	13.2	13.9	12.7
MI	7.3	6.9	6.5	7.8
FC	2.2	3.9	6.2	7.7
FDN	11.9	17.1	19.4	24.0
FDT	12.3	17.5	19.8	24.2
ELN	54.7	53.8	51.1	49.8
EB (kcal/kg)	4404	4407	4432	4445

¹ Proteína animal: Mezcla de vísceras de pollo, harina de carne bovina y harina de pescado.

² Aceite animal: Mezcla de aceite de pollo y aceite de pescado.

³ MS, 98%; PC, 3%; EE, 1%; cenizas, 2%; FC, 43%; FDN, 87.5%; FDT, 87%; celulosa, 50.5%; hemicelulosa, 30.5%; lignina, 6.5%.

⁴ Premezcla vitamínica-mineral. Contenido por kg de premezcla: vitamina A, 738.93 g; vitamina D3, 6.36 g; vitamina E, 80.74 UI; vitamina K, 0.71 mg; tiamina, 7.14 mg; riboflavina, 3.57 mg; ácido pantoténico, 10.71 mg; niacina, 17.86 mg; piridoxina, 2.14 mg; biotina, 0.21 mg; cianocobalamina, 0.01 mg; ácido fólico, 0.94 mg; manganeso, 26.8 mg; hierro, 97 mg; cobre, 12.5 mg; cobalto, 3.12 mg; zinc, 138 mg; yodo, 2.05 mg; selenio, 0.25 mg.

⁵ MS, materia seca; PC, proteína cruda; EE, extracto etéreo; MI, cenizas; FC, fibra cruda; FDN, fibra detergente neutra; FDT, fibra dietaria total; ELN, extracto libre de nitrógeno; EB, energía bruta.

Colecta de heces y orina.

El experimento se condujo bajo un diseño experimental en cuadrado latino. Cada periodo experimental tuvo diez (10) días de duración, cinco (5) días de adaptación y cinco (5) días de colección.

La adaptación de los perros a las jaulas metabólicas (JM) (0.7 de largo x 0.6 de alto x 0.5 m de ancho) se realizó durante los seis meses que antecedieron la fase experimental. Para tal efecto los animales se alojaron repetidamente por periodos no superiores a cinco días consecutivos. Durante esa etapa se observaron cambios de comportamiento, pisoteo de la materia fecal, irregularidad en la defecación, disminución del consumo y abstinencia urinaria. Esta situación obligó a ajustar la metodología tradicional de colecta total (CT) de heces y orina en JM así: dos veces por día (06:20 y 16:20 h), los perros se sacaron de las JM durante 30 minutos y se llevaron a un lugar contiguo con piso en grama para estimular la defecación. La CT de heces se realizó con ayuda de bandeja plástica (50 cm largo x 30 cm de ancho) ubicada bajo el ano del animal. Con el fin de marcar el inicio y el final de la colecta fecal se utilizó índigo carmín (Sigma-Aldrich, Saint Louis, MO, USA) en la primera y última ración (1 g*kg⁻¹ de alimento). Para la CT de orina se condujeron los animales a sitios previamente orinados por otros perros machos para estimular la micción. y se utilizó bandeja plástica (50 cm largo x 30 cm de ancho x 15 cm profundidad) que se ubicó bajo el pene del animal. La cantidad resultante se vertió en un recipiente

que contenía 50 ml H₂SO₄ (1N), el cual estaba permanentemente ubicado debajo de la JM en caso de registrarse micción espontánea por fuera del horario definido para la colecta. Diariamente, durante los cinco (5) días de colecta, se registró el peso del total de las heces y el peso y volumen de la orina producidas por cada perro. Para tal efecto se empleó báscula de 6 kg ± 0.1g y probeta graduada de 250 ml. Las muestras se almacenaron debidamente identificadas a -20°C.

Análisis químico de heces y orina.

Las muestras fecales se secaron en estufa de ventilación forzada (55°C por 72 h; Vilab, Medellín, Colombia) para determinar MS y luego se molieron a 1 mm (molino Thomas-Wiley; Arthur H. Thomas Co., Philadelphia, PA, USA) para su análisis químico. Alícuotas proporcionales a la excreción diaria se mezclaron para obtener muestras compuesta por animal, en las cuales se determinó MS, PC, EE, MI, FC, FDN, FDT y EB. El ELN se obtuvo por diferencia. En la muestra compuesta de orina, obtenida de la mezcla de alícuotas proporcionales a la excreción diariamente registrada, se determinó MS, PC y EB. Los protocolos de análisis fueron previamente descritos (ver dietas experimentales y tratamientos). Para la determinación de EB en la orina se emplearon bolsas plásticas (IKA® Werke C12) previamente pesadas, sobre las cuales se pipeteó 30 ml de orina, registrando el peso de la bolsa más la orina. Las muestras se secaron (55°C por 72 h) en horno de ventilación forzada y posteriormente se pesaron y quemaron en la bomba calorimétrica. La EB de la bolsa vacía (cal/g), establecida mediante la combustión individual de cinco bolsas, se descontó del valor de EB de las muestras experimentales.

Determinación de la digestibilidad aparente, balance energético y densidad energética del alimento.

La digestibilidad aparente (DA) de la MS (DMS), EB (DEB), PC (DPC), EE (DEE), FC (DFC), FDN (DFDN), FDT (DFDT), ELN (ELN) y MI (DMI) se determinó a partir

de la ecuación: $DA (\%) = \left(\frac{\text{Nutriente consumido (g)} - \text{Nutriente en las heces (g)}}{\text{Nutriente consumido (g)}} \right) * 100$ (Lôbo et al., 2001).

El consumo de ED (CED) de cada animal se obtuvo por la diferencia entre el consumo de EB (CEB) y las pérdidas de energía a través de las heces (E_f). El consumo de EM (CEM) se determinó por la diferencia entre el CED y las pérdidas energéticas a través de la orina (E_o).

La densidad energética del alimento, en términos de ED y EM, expresada en kcal/kg de MS, se obtuvo de dividir el CED y el CEM entre el consumo de MS, respectivamente. La digestibilidad (DE) y la metabolibilidad (q) de la energía se obtuvieron de la relación ED/EB y EM/EB (expresadas en kcal/kg), respectivamente.

Densidad energética predicha.

Los valores de densidad energética de los cuatro alimentos (tratamientos) fueron predichos a partir de las ecuaciones que se describen a continuación. Los valores obtenidos fueron contrastados con los valores observados.

$$ED_{\text{predicha}} (\text{kcal/kg}) = EB * DEB_{\text{predicha}} \quad DEB_{\text{predicha}} (\%) = \left(\frac{((91.2) - (1.43 * \%FC \text{ en materia seca}))}{100} \right) \text{ (NRC, 2006)}$$

$$ED_{\text{predicha}} (\text{kcal/kg}) = ((4.92 \text{ PC}) + (9.25 \text{ EE}) + (3.73 \text{ ELN}) - (10.73 \text{ FC})) \quad \text{(Gröner y Pfeffer, 1997)}$$

$$ED_{\text{predicha}} (\text{kcal/kg}) = ((5.11 \text{ PC}) + (8.94 \text{ EE}) + (3.49 \text{ ELN}) - (2.87 \text{ CF})) \quad \text{(Kienzle, 1998b)}$$

$$EM_{\text{predicha}} (\text{kcal/kg}) = ((4 * \text{gPC}) + (9 * \text{gEE}) + (4 * \text{gELN})) \quad \text{(Atwater, 1902)}$$

$$EM_{\text{predicha}} (\text{kcal/kg}) = ((3.5 * \text{gPC}) + (8.5 * \text{gEE}) + (3.5 * \text{gELN})) \quad \text{(Atwater, 1910)}$$

$$EM_{\text{predicha}} (\text{kcal/kg}) = ((ED_{\text{predicha}}) - (1.04 * \text{gPC})) \quad \text{(NRC, 2006)}$$

Análisis de la información.

Efecto del tratamiento sobre el consumo, la digestibilidad y el balance energético.

Las variables de consumo, digestibilidad y balance energético se analizaron bajo un

diseño en cuadrado latino de acuerdo con el siguiente modelo: $Y_{ijk} = \mu + \tau_k + \alpha_i + \beta_j + \beta(x) + \sum_{l=1}^{L=(4-1)} C\gamma_l + \varepsilon_{k(ij)}$; dónde: Y_{ijk} , variable respuesta; μ , efecto promedio del experimento; τ_k , efecto promedio del k-ésimo tratamiento ($k=t_1, t_2, t_3$ y t_4); α_i , efecto de la i-ésima unidad experimental ($i=$ perro 1, 2, 3,...8); β_j , efecto del j-ésimo periodo ($j=1, 2, 3$ y 4); $\beta(x)$, efecto del peso inicial de los animales utilizado como covariable; $\sum_{l=1}^{L=(4-1)} C\gamma_l$, efecto de arrastre y, $\varepsilon_{k(ij)}$, error experimental. Se cumplieron los supuestos de normalidad y homocedasticidad de los residuales (Cerón-Muñoz *et al.*, 2013).

La comparación de medias se realizó mediante la prueba de Tukey a un nivel de significancia del 5%. Se consideró que los tratamientos tendieron a ser estadísticamente diferentes cuando los valores- p fluctuaron entre 0.05 y 0.1.

Ecuaciones de regresión. Finalmente, se realizaron análisis de regresión que relacionaron la densidad energética de los alimentos (y) (ED) con su contenido de fibra (x) (FC, FDN, FDT), de acuerdo con el modelo: $Y_i = \beta_0 + \beta_1 X_1$; donde Y_i , variable dependiente representada por los valores de densidad energética observada, β_0 y β_1 , intercepto y pendiente, respectivamente (Gómez, 2007). Igualmente, se realizaron ecuaciones de regresión que relacionaron el contenido de fibra de los alimentos a partir de diferentes protocolos de análisis de este componente nutricional.

Comparación de los valores observados con los predichos. Los valores de densidad energética observados se compararon con los predichos mediante la determinación del error de predicción relativo (EPR) y del coeficiente de correlación de concordancia (CCC). El EPR correspondió a la relación entre la raíz cuadrada del cuadrado medio del error de predicción (CMEP) y la media de los valores de densidad energética observados. Un EPR inferior al 10% indica una predicción satisfactoria; entre 10-20%, predicción aceptable y, mayor a 20%, predicción baja (Fuentes *et al.*, 1996; Baudracco *et al.* 2013). El CCC evaluó la intercambiabilidad entre los valores de densidad energética observados y predichos (Lin, 1989) a partir de la ecuación $CCC = CCP \times Cb$, donde CCP es el coeficiente de correlación de Pearson (relación lineal entre los valores observados y predichos) y Cb es el factor

de corrección de sesgo, el cual refleja exactitud (hasta qué punto la línea de regresión empezando desde el origen se ajusta a 45°). Un CCC menor a 0.20 se considera bajo, entre 0.21-0.40, justo; entre 0.41-0.60, moderado; entre 0.61-0.80, sustancial y, entre 0.81-1.00, casi perfecto (Baudracco et al., 2013).

Resultados

Peso corporal y estado de salud de los animales.

El peso corporal y las variables fisiológicas valoradas en los perros se presentan en la Tabla 2. Los valores estuvieron dentro del rango de referencia.

Tabla 2. Peso corporal y variables fisiológicas de las unidades experimentales.

Variable	Media±DE ¹	Valor de referencia
Peso inicial (kg)	31.8±5.2	29.5-36.4*
Peso final (kg)	32.0±4.8	
Temperatura corporal (°C)	38.3±0.5	38.0-39.0 ⁺
Frecuencia cardíaca (latidos/minuto)	94.7±10.5	70-120 ⁺
Frecuencia respiratoria (respiraciones/minuto)	22.2±3.2	15-30 ⁺
Coloración de la mucosa ²	1	Rosada ⁺
Llenado capilar (segundos)	1.2±0.4	1-3 ⁺

*AKC (1994); ⁺Burítica et al., 2009

¹DE = Desviación estándar

²Valorados en escala de 1 a 5, donde 1, rosada; 2, pálida; 3, congestiva; 4, icterica; 5, cianótica.

Consumo de materia seca y de nutrientes.

El consumo de MS y de nutrientes se presenta en la Tabla 3. El coeficiente de variación (CV) fluctuó entre 4.1 y 11.8%. Respecto T1, la cantidad de MS ofertada (g/d) en T2, T3 y T4 fue 1.7, 4.5 y 8.8% superior, respectivamente. En esos tres tratamientos, el CMS (g/d) fue inferior a la cantidad suministrada, razón por la cual no se presentaron diferencias entre tratamientos ($p>0.05$), si bien T4 tendió a ser

diferente de T2 y T3 ($p < 0.1$). El consumo de fibra (FC, FDN, FDT) en sus diferentes expresiones (g/d, g/kg $PV^{0.75}$) presentó diferencia estadística entre tratamientos ($p < 0.05$). Los consumos aumentaron conforme se incrementó el contenido de fibra en los alimentos.

Tabla 3. Consumo de materia seca y de nutrientes en los diferentes tratamientos experimentales

Variable ¹	Media \pm DE ²			
	T1	T2	T3	T4
MS ofrecida, g/d	701.9 \pm 30.1 c	713.6 \pm 15.9 bc	733.3 \pm 31.5 b	763.6 \pm 34.6 a
CMS, g/d	701.9 \pm 30.1 a	689.4 \pm 52.1 a*	689.5 \pm 75.6 a+	744.0 \pm 35.6 a**
CMS, g/kg $PV^{0.75}$	55.2 \pm 2.3 a	49.4 \pm 3.7 a	53.8 \pm 6.3 a	55.2 \pm 2.8 a
CPC, g/d	161.0 \pm 6.9 a	153.0 \pm 11.6 a	154.0 \pm 16.9 a	163.8 \pm 7.8 a
CPC, g/ kg $PV^{0.75}$	12.6 \pm 0.5 a	11.0 \pm 0.8 a	12.0 \pm 1.4 a	12.2 \pm 0.6 a
CEE, g/d	90.6 \pm 3.9 b	90.7 \pm 6.9 b	96.0 \pm 10.5 a	94.1 \pm 4.5 ab
CEE, g/ kg $PV^{0.75}$	7.1 \pm 0.3 a	6.5 \pm 0.5 a	7.5 \pm 0.9 a	7.0 \pm 0.4 a
CFC, g/d	15.5 \pm 0.7 d	27.0 \pm 2.0 c	42.9 \pm 4.7 b	57.2 \pm 2.7 a
CFC, g/ kg $PV^{0.75}$	1.2 \pm 0.0 d	1.9 \pm 0.1 c	3.3 \pm 0.4 b	4.2 \pm 0.2 a
CFDN, g/d	83.5 \pm 3.6 d	117.9 \pm 8.9 c	133.8 \pm 14.7 b	178.6 \pm 8.6 a
CFDN, g/ kg $PV^{0.75}$	6.6 \pm 0.3 d	8.4 \pm 0.6 c	10.4 \pm 1.2 b	13.3 \pm 0.7 a
CFDT, g/d	86.5 \pm 3.7 d	120.3 \pm 9.1 c	136.5 \pm 15.0 b	179.9 \pm 8.6 a
CFDT, g/ kg $PV^{0.75}$	6.8 \pm 0.3 d	8.6 \pm 0.6 c	10.6 \pm 1.3 b	13.4 \pm 0.7 a
CMI, g/d	51.2 \pm 2.2 b	47.6 \pm 3.6 bc	44.8 \pm 4.9 c	58.0 \pm 2.8 a
CMI, g/ kg $PV^{0.75}$	4.0 \pm 0.2 a	3.4 \pm 0.3 a	3.5 \pm 0.4 a	4.3 \pm 0.2 a
CELN, g/d	383.9 \pm 16.5 a	370.9 \pm 28.0 a	352.3 \pm 38.7 a	370.5 \pm 17.7 a
CELN, g/ kg $PV^{0.75}$	30.2 \pm 1.2 a	26.6 \pm 2.0 a	27.5 \pm 3.2 a	27.5 \pm 1.4 a

¹ CMS, consumo de materia seca; CPC, consumo de proteína cruda; CEE, consumo de extracto etéreo; CFC, consumo de fibra cruda; CFDN, consumo de fibra detergente neutro; CFDT, consumo de fibra dietaria total; CMI, consumo de material inorgánico; CELN, consumo de extracto libre de nitrógeno.

² DE= Desviación estándar

a, b, c y d Letras diferentes en la misma fila indican diferencia estadística significativas ($p < 0.05$).

*,+ Igual signo en la misma fila indica tendencia a presentar diferencia estadística ($p < 0.1$).

Digestibilidad aparente de los nutrientes.

Los valores de DA de la MS y los nutrientes se muestran en la Tabla 4, mostrando un comportamiento decreciente conforme aumenta el nivel de fibra en el alimento. En todas las fracciones analizadas se registró diferencia entre tratamientos ($p < 0.05$). La prueba de comparación de medias mostró las mismas diferencias cuando se analizó DFC y DFDN, no obstante, la magnitud de las diferencias fue mayor para la DFC. La DFDT no tuvo diferencias entre T1 y T2, ni entre T3 y T4. Los CV de los valores promedios de DA estuvieron entre 0.3 y 13.4%, con excepción de la DFC, cuyos CV oscilaron entre 15.2 y 60.1%.

Tabla 4. Digestibilidad aparente de la materia seca y los nutrientes en los diferentes tratamientos experimentales.

Variable (%) ¹	Media \pm DE ²			
	T1	T2	T3	T4
DMS	86.6 \pm 0.3 a	82.3 \pm 0.6 b	79.9 \pm 0.9 c	75.2 \pm 0.3 d
DPC	86.0 \pm 0.6 a	85.1 \pm 0.7 ab	85.1 \pm 1.0 ab	84.9 \pm 0.9 b
DEE	97.5 \pm 0.3 a ⁺	96.9 \pm 0.4 ab ⁺	96.8 \pm 0.4 bc [*]	96.1 \pm 1.0 c [*]
DFC	29.4 \pm 7.9 a	19.8 \pm 3.0 b	11.2 \pm 6.7 c [*]	5.7 \pm 2.2 c [*]
DFDN	63.9 \pm 1.7 a	50.7 \pm 3.0 b	43.4 \pm 4.1 c	41.3 \pm 2.8 c
DFDT	55.8 \pm 3.8 a	52.9 \pm 3.2 a	38.4 \pm 4.1 b	36.8 \pm 4.5 b
DMI	35.9 \pm 3.6 a	30.5 \pm 4.1 b	31.3 \pm 3.8 b	24.8 \pm 2.9 c
DELN	91.1 \pm 0.4 a	85.4 \pm 0.9 b	83.8 \pm 0.9 c	79.5 \pm 0.8 d

¹DMS, digestibilidad de la materia seca; DPC, digestibilidad de la proteína cruda; DEE, digestibilidad del extracto etéreo; DFC, digestibilidad de la fibra cruda; DFDN, digestibilidad de la fibra detergente neutra; DFDT, digestibilidad de la fibra dietaria

total; DMI, digestibilidad del material inorgánico; DELN, digestibilidad del extracto libre de nitrógeno.

² DE= Desviación estándar

a, b, c y d Letras diferentes en la misma fila indican diferencia estadística significativas ($p < 0.05$).

*.+ Igual signo en la misma fila indica tendencia a presentar diferencia estadística ($p < 0.1$).

Balance energético.

El balance energético asociada con cada uno de los tratamientos se muestra en la Tabla 5. El consumo de EB sólo presentó diferencias entre T2 y T4, a favor de este último tratamiento. El consumo de ED y EM fue superior para T1 vs. T3 y T4. La digestibilidad (ED/EB), metabolibilidad (EM/EB) y densidad energética de los alimentos difirió entre todos los tratamientos ($p < 0.05$), disminuyendo conforme aumentó el contenido de fibra. Los CV de las variables en estudio fluctuó entre 0.3 y 11.3%, con excepción de la EBo, cuyos CV oscilaron entre 20.9 y 48.6%.

Tabla 5. Balance de energía en los diferentes tratamientos experimentales.

Variable ¹	Media \pm DE ²			
	T1	T2	T3	T4
<i>Energía bruta (EB)</i>				
Consumo, kcal/d	3091.0 \pm 132.5 ab	3038.4 \pm 229.7 b	3055.9 \pm 335.2 ab*	3307.3 \pm 158.4 a*
<i>Energía digestible (ED)</i>				
EBf, kcal/d	352.5 \pm 21.3a	503.9 \pm 38.7b	616.2 \pm 69.5c	782.9 \pm 29.0d
Consumo, kcal/d	2738.4 \pm 113.3 a*	2534.5 \pm 198.7 ab*	2439.7 \pm 274.3 b	2524.3 \pm 132.0 b
ED/EB (%)	88.6 \pm 0.2 a	83.4 \pm 0.5 b	79.8 \pm 0.6 c	76.3 \pm 0.5 d
ED, kcal/kg	3902.0 \pm 10.1 a	3675.7 \pm 20.6 b	3536.9 \pm 27.4 c	3392.2 \pm 20.4d
<i>Energía metabolizable (EM)</i>				
EBo, kcal/d	83.4 \pm 29.9 a	81.2 \pm 31.7 a	99.4 \pm 20.8 a	76.2 \pm 37.0 a
Consumo, kcal/d	2655.1 \pm 106.5 a*	2453.3 \pm 189.7 ab*	2340.3 \pm 264.0 b	2448.1 \pm 151.9 b
EM/EB (q, %)	85.9 \pm 0.8 a	80.7 \pm 1.0 b	76.6 \pm 0.7 c	74.0 \pm 1.4 d

EM/ED (%)	97.0±1.1 a	96.8±1.2 a	95.9±0.6 a	97.0±1.5 a
EM, kcal/kg	3783.2±36.0 a	3557.7±46.2 b	3392.8±30.1 c	3289.0±60.3 d

¹ EBo, energía bruta de la orina; q, metabolibilidad.

² DE= Desviación estándar

a, b, c y d Letras diferentes en la misma fila indican diferencia estadística significativas ($p < 0.05$).

*,+ Igual signo en la misma fila indica tendencia a presentar diferencia estadística ($p < 0.1$).

Las ecuaciones de regresión que relacionan el contenido de fibra de los alimentos (x) con su contenido de ED (y) se presentan en la Figura 1. Las ecuaciones obtenidas presentan un elevado coeficiente de determinación (R^2), superior al 96%.

La relación lineal entre las diferentes formas de analizar el contenido de fibra de los alimentos (FC, FDN y FDT, valores expresados en porcentaje) se muestra en la Figura 2. Las ecuaciones obtenidas presentan coeficientes de determinación (R^2) superiores al 95%.

Valores de densidad energética observados y predichos

En la Tabla 6 se presentan los estimadores de sesgo entre los valores de densidad energética observados y los predichos a partir de las ecuaciones empíricas propuestas por la literatura. De acuerdo con el CCC, las mejores ecuaciones para predecir la ED fueron las propuestas por Gröner y Pfeffer (1997) y el NRC (2006). Con excepción de la ecuación de Atwater (1902) para determinar EM, todas las ecuaciones obtuvieron valores de EPR (%) menores al 10%. Los mayores valores para el CCC y el Cb se observaron para la ecuación del NRC (2006), valores intermedios para la ecuación de Atwater (1910) y los menores para la ecuación de Atwater (1902).

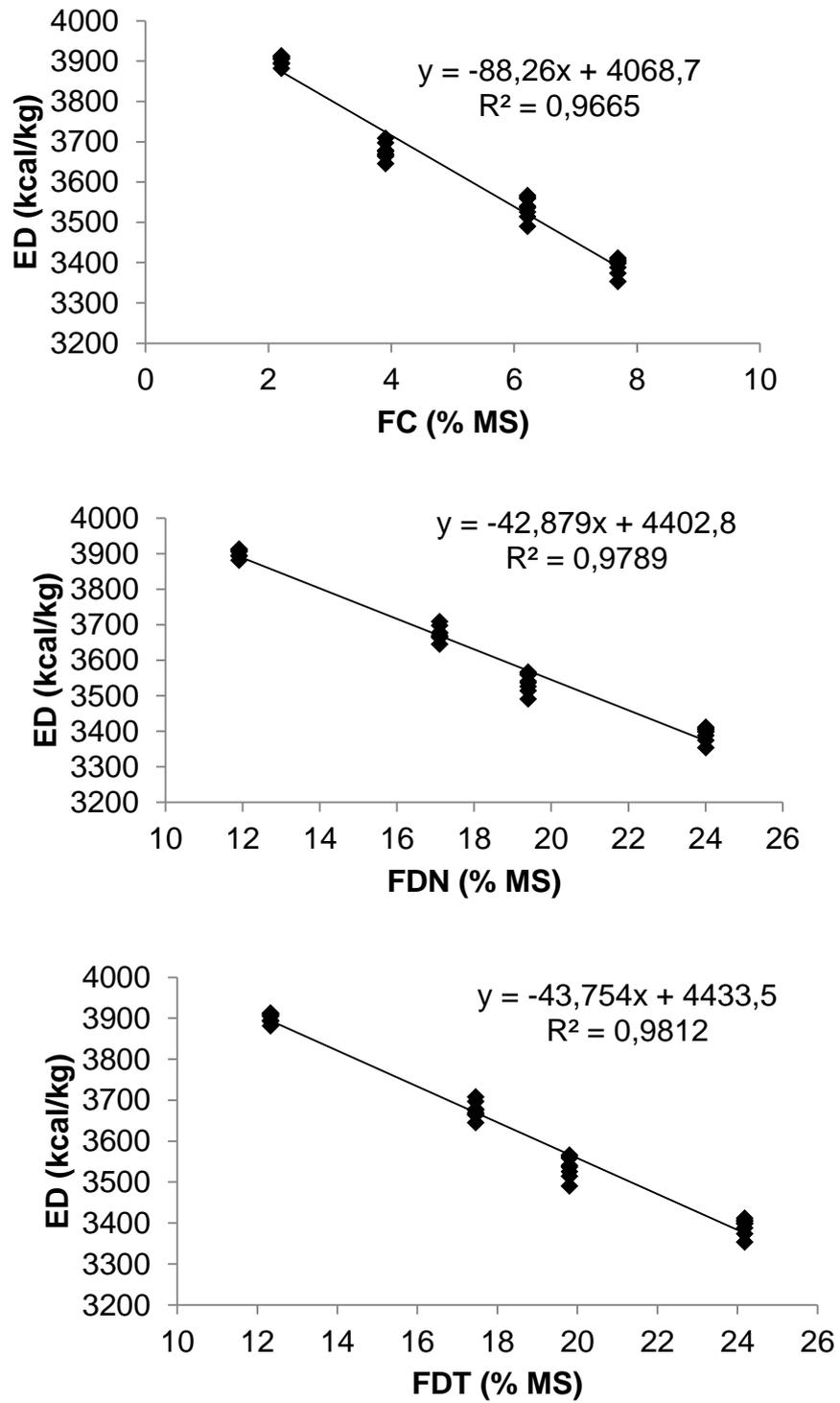


Figura 1. Relación lineal entre el contenido de fibra del alimento (FC, FDN y FDT, expresado en porcentaje) y su densidad energética (ED, kcal/kg).

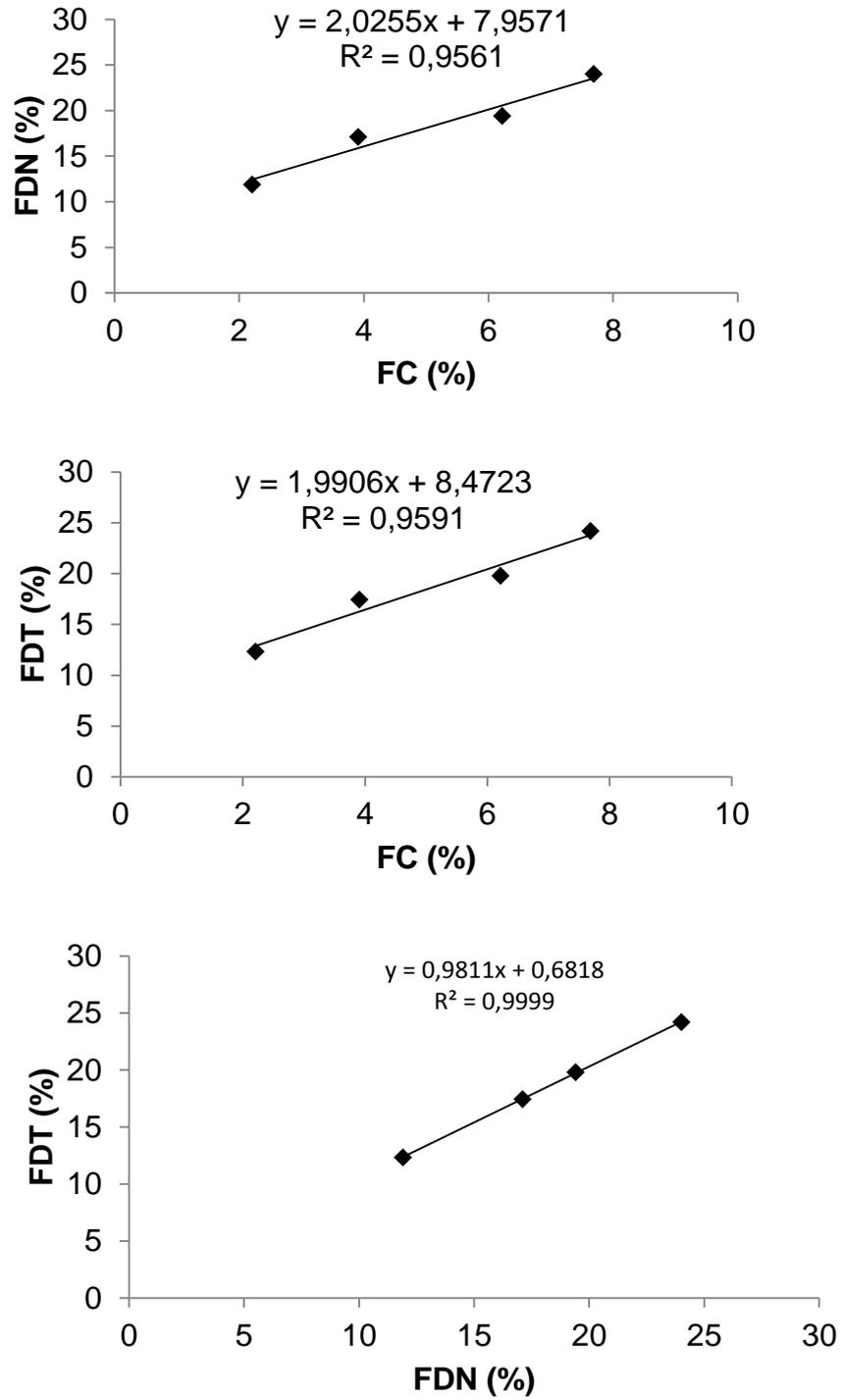


Figura 2. Relación lineal entre las diferentes formas de analizar el contenido de fibra de los alimentos (FC, FDN y FDT, valores expresados en porcentaje).

Tabla 6. Estimadores de sesgo entre la densidad energética observada y la predicha

Est ¹	Ecuaciones de predicción					
	Energía digestible (kcal/kg)			Energía metabolizable (kcal/kg)		
	Gröner y Pfeffer (1997)	Kienzle (1998b)	NRC (2006)	Atwater (1902)	Atwater (1910)	NRC (2006)
EPR (%)	4.18	5.68	3.19	15.01	4.53	2.56
CCC	0.83	0.54	0.77	0.09	0.48	0.88
CCP	0.97	0.92	0.96	0.80	0.80	0.97
Cb	0.86	0.59	0.80	0.11	0.61	0.91

¹Estimador: EPR, Error de predicción relativo; CCC, Coeficiente de correlación de concordancia; CCP, Coeficiente de correlación de Pearson; factor de corrección de sesgo.

Discusión

Composición de los tratamientos experimentales

En la Tabla 1 se observa que el contenido de FC de los tratamientos se aproxima a los valores objeto de estudio, a saber, 2, 4, 6 y 8% para T1, T2, T3 y T4, respectivamente. Igualmente se aprecia que el método de FC subestima el contenido de fibra del alimentos entre 68 y 82%, en comparación con la FDT. Hervera et al. (2007) y Bartges y Anderson (1997) demostraron que la FC cuantifica solo un 20% de la fibra total. La FDN de los alimentos fue en promedio 2.1 % inferior a los valores de FDT, lo cual se explica por la capacidad del método de FDT para determinar componentes fibrosos solubles tales como gomas y mucilagos, lo que no es posible con la determinación de FDN (Prosky et al., 1985). El aditivo utilizado para aumentar la concentración de fibra en el alimento fundamentalmente consiste de fibra insoluble (celulosa, hemicelulosa) (Tabla 1), por lo cual se confirma que siempre que el contenido de fibra soluble en el alimento sea bajo, la FDN puede ser un buen predictor de las fibra dietaria.

Peso corporal y estado de salud de los animales.

El peso corporal de los animales estuvo dentro del rango propuesto para la raza (AKC, 1994). Igualmente, el peso al finalizar el experimento fue ligeramente superior al peso inicial (Tabla 2), indicando que la oferta de MS durante la realización del estudio fue adecuada y no originó movilización de reservas corporales (balance positivo de energía). La oferta de alimento fue 36.4% superior a la recomendada por el NRC (2006) para suplir los requerimientos de EM_m y aún así sólo se obtuvo una ganancia de 5 g/animal/diaria. Este margen de seguridad en la oferta de alimento resulta importante teniendo presente que los animales durante la realización de experimentos pueden registrar un mayor nivel de alerta y actividad, producto de su manipulación, y en esa medida sus requerimientos de energía pueden aumentar (Sabchuk, et al., 2012). Adicionalmente, los niveles crecientes de fibra, pueden comprometer el CMS, la DMS y, en última instancia, el contenido de EM del alimento, como se evidenció en este experimento (Tablas 3, 4 y 5), por lo que ajustarse completamente a la recomendación del NRC (2006) hubiese comprometido la conservación del peso corporal. Cuando el peso corporal se empleó como covariable en el modelo estadístico, su efecto no fue significativo, lo que confirmó la homogeneidad de esta característica en las que las unidades experimentales.

Consumo de materia seca y de nutrientes.

El mayor contenido de fibra en el alimento disminuyó la concentración de EM (kcal/kg) (Tabla 5), por lo cual la oferta de MS necesaria para cubrir las demandas energéticas de mantenimiento de los perros se hace mayor (Tabla 2). No obstante, el mayor contenido de fibra igualmente impone unas limitantes físicas al consumo, relacionadas con mayor distensión del tracto gastrointestinal y sensación de saciedad (Bosch et al., 2009). Esto se puede observar en la Tabla 2, donde se registraron diferencias estadísticas en la MS ofrecida ($p < 0.05$), pero no en la MS consumida ($p > 0.05$), indicando que el CMS no aumentó en proporción directa con la cantidad suministrada. Los CMS en T2, T3 y T4 representaron el 94-97% de lo ofertado, mientras que en T1 no se registraron rechazos. Otra plausible explicación a

la reducción en el CMS conforme aumenta el contenido de fibra del alimento se basa en la fermentación de este nutriente en el colon. De acuerdo con Pappas et al. (1986), la fermentación incrementa la producción de ácidos grasos de cadena corta, los cuales a su vez son estimuladores del péptido YY, una hormona que disminuye el vaciamiento gástrico, generando sensación de saciedad. Jewell et al. (1995) y Dobenecker et al. (1998) observaron disminución en la ingesta de MS en perros alimentados con dietas alta en fibra, diferencias que atribuyeron a la menor palatabilidad. Los resultados de CMS de este estudio pueden ser consistentes con esta hipótesis.

Al efecto de distensión originado por la fibra, debe sumarse la necesidad de los perros por consumir la cantidad de alimento necesaria para suplir sus demandas de energía. En la Tabla 3 se observa que el consumo de FC, FDN, FDT (expresada en g/d y en g/ kg PV^{0.75}) aumentó hasta el punto en que los factores físicos lo permitieron, sin que se lograra un similar consumo de EM en todos los tratamientos (Tabla 5). El CMS para T1, T2, T3 y T4 fue 36.5, 36.4, 36.4 y 36.4% mayor que el estimado desde el NRC (2006) para cubrir los requerimientos de EM_m, respectivamente.

Las diferencias estadísticas registradas en el CEE y CMI obedecen a diferencias en la concentración de estos nutrientes en los alimentos (Tabla 1).

Digestibilidad aparente de los nutrientes.

En todos los casos se verifica el efecto deletéreo de la fibra sobre la digestibilidad de la MS y de los nutrientes, especialmente en T3 y T4 (Tabla 4). Esto concuerda con la descripción de varios autores, quienes afirman que la fibra dietética puede reducir la digestibilidad de la dieta en muchas especies (Drochner, 1984; Schulze, 1987), incluyendo perros (Riklin y Meyer, 1975) y gatos (Kienzle et al., 1991). Fahey et al. (1990) comparando dietas basadas en carne, con y sin inclusión de 12.8% de salvado de trigo, observaron disminución en la DMS (87.6 vs 83.1%). Earle et al. (1998) encontraron que la DMS y de la DEB se correlacionó negativamente con el incremento en el nivel de celulosa en la dieta (CCP=-0.88).

En el presente estudio se observa que el incremento en los niveles de fibra no afectó en igual medida la digestibilidad de todos los nutrientes. La DPC y la DEE registraron reducciones de menor magnitud vs. los restantes nutrientes (Tabla 4). Kienzle et al. (2001) encontraron que la DEE en dietas altas en EE (>30%) no se afectó con niveles de 20% de FC, producto de la inclusión de celulosa, lo que si observaron para dietas con menor nivel de EE (entre 12 y 16.5%), donde la DEE disminuyó 1.3% (95.1 vs. 93.8%), diferencia similar a la registrada en el presente estudio (1.4%). Sunvold et al. (1995) encontraron que la DEE se afectó más por la presencia de fibra fermentable que por otros tipos de fibra. Esto también puede soportar el menor efecto del nivel creciente de fibra sobre la DEE en este trabajo, por tratarse de aumentos basados en la adición de un aditivo fundamentalmente compuesto por fibra insoluble. Con respecto a la PC, diferentes autores (Meyer et al., 1989; Kienzle, 1993; Kienzle, 1994) han reportado disminución en su digestibilidad cuando las dietas son altas en fibra. Posiblemente, como lo explica Howard et al. (2000), una parte de la fibra puede fermentarse en el colon aumentando la población microbiana y con ello la excreción endógena de nitrógeno, con lo cual la DPC será menor. Similar a lo observado en el presente estudio, Kienzle et al. (1991) encontraron que la DPC no se afectó en gran medida con la inclusión de celulosa como fuente de fibra.

La digestibilidad de la fibra disminuyó conforme se aumentó el nivel de inclusión de la misma. La magnitud de la reducción varió en función del método de determinación. La reducción porcentual en T4 vs. T1 fue del 95.2, 25.4 y 34.1% para la DFC, DFDN y DFDT, respectivamente (Tabla 4). Fahey et al. (1990) reportaron una disminución porcentual en la DFDN similar a la registrada en el presente trabajo (27.3%), si bien sólo aumentaron el nivel de FC de 0.7 a 2.4% FC a partir de la inclusión de salvado de trigo (la DFDN fue 57.2 y 41.6%, respectivamente). Kawauchi et al. (2011) encontraron que la DFDT disminuyó desde 35.2% hasta 19.0% en dietas con 7.6 y 12.7% de fibra dietaria, variando la inclusión de gluten de maíz. La reducción en la DFDT fue mayor (46.0%) aún con niveles de FDT inferiores a los del presente trabajo. Como lo demuestran los resultados del presente estudio y

la literatura previamente referenciada, la fibra es un nutriente de baja digestibilidad (Kienzle et al., 2006), no obstante, la magnitud en la reducción de la digestibilidad cuando se aumenta su participación en la dieta parece depender del nivel y de la fuente de fibra utilizada. La reducción en la digestibilidad de la fibra se muestra inferior a la observada en los trabajos de Fahey et al. (1990) y Kawauchi et al. (2011), lo cual puede obedecer a que el aditivo empleado tiene una elevada participación de celulosa y hemicelulosa (81%), con una mínima participación de lignina (6.5%). Los valores de DMI, si bien también disminuyeron con la participación de fibra en la dieta (Tabla 4), deben examinarse cuidadosamente, toda vez que las heces representan la principal vía para la excreción de algunos minerales (ej. calcio) (McDowell, 2003).

Balance energético.

La reducción en la DEB (relación ED/EB) (Tabla 5), resultante de niveles crecientes de fibra, concuerda con las observaciones de Kawauchi et al. (2011), quienes encontraron que la DEB disminuyó de 90.8 a 81.3% en dietas con 7.6 y 16.5% fibra dietaria. Los valores de ED dependen de la DEB y, por lo tanto, las diferencias estadísticas entre tratamientos son las mismas para las dos variables. La pérdida de EB en la orina no fue afectada por el nivel de fibra de la dieta (Tabla 5), lo cual indica que el efecto de este nutriente es a nivel digestivo. Esto se confirma desde la relación EM/ED, que igualmente no registró diferencia estadística entre tratamientos. Las pérdidas en la orina fluctuaron entre 2.1 y 2.8% de la ED consumida. Sin efecto del tratamiento sobre la pérdida de energía en la orina, las diferencias en la metabolicidad obedecen a diferencias en la DEB y, las diferencias en EM se corresponden con las diferencias en ED. Cuando se compara T1 y T4, la concentración de EM disminuyó 494 kcal/kg. Fortes et al. (2010) encontraron una reducción de 524 kcal/kg evaluando dietas con 11.9 vs 19.1% de fibra dietaria.

El efecto de la fibra sobre el contenido de ED del alimento y por tanto, sobre su aporte de EM, puede verificarse en las ecuaciones de regresión que se presentan en la figura 1. Similar a lo reportado por Kienzle et al. (1998a) y Kienzle et al. (2006), los

resultados del presente estudio indican que la ED puede predecirse con bastante precisión desde el contenido de FC ($R^2= 0.97$), FDN y FDT ($R^2= >0.98$). Las pendientes de regresión, no obstante, dependen del método de determinación de fibra, dado que en comparación con la FDT, los contenidos de FC en los alimentos fueron sistemáticamente inferiores. Mientras que las ecuaciones de regresión involucrando FDN y FDT presentan pendientes similares, este parámetro resultó de mayor magnitud cuando la ecuación se construyó con base en el reporte de FC. Esto coincide con los resultados de la Tabla 4, donde la DFC fue más afectada por los tratamientos que la DFDN y la DFDT.

Earle et al. (1998) y Kienzle et al. (1998a) encontraron superioridad al utilizar la FDT, la fibra insoluble (FI), la fibra detergente ácido (FDA) o la celulosa, en lugar de FC, como variables independientes para estimar la densidad energética. Kienzle et al. (1998b) encontraron un mejor ajuste entre los valores observados y calculados de ED cuando éstos se estimaron a partir de FDT respecto a FC ($r = -0,98$ vs. $-0,94$). Los autores señalaron que el mejor ajuste con FDT puede haber sido explicado en parte a una mayor uniformidad de la base de datos utilizada para establecer la ecuación. Estudios más recientes (Kienzle et al., 2006) también sugieren resultados más precisos utilizando FDT en lugar de FC ($r = -0.94$ vs. -0.87 , respectivamente). A diferencia de estos resultados, otros trabajos no han encontrado ventajas en utilizar la FDT. Fahey et al. (1990) evaluando niveles crecientes de pulpa de remolacha (fibra soluble), a saber, 0, 2.5, 5.0, 7.5, 10.0 y 12.5% de la MS, equivalentes a 1.1, 1.65, 1.85, 2.60, 3.05 y 3.5% de FC, no encontraron diferencias de EM (kcal/d) entre los tratamientos, y cuando los resultados se expresaron en kcal/g de MS consumida o como porcentaje de la EB consumida los cambios fueron sutiles, la ED disminuyó 3.3 y 4.8%, respectivamente, y la EM disminuyó 3.8 y 6.2%, respectivamente. La explicación puede estar asociada a que la fermentación en el colon no contribuye sustancialmente con el suministro de energía a los perros. Igualmente, Kienzle (2002) no encontró diferencias entre la precisión de la predicción de EM cuando se utilizó FDT en comparación con la FC. Los resultados del presente trabajo son consistentes con los anteriores hallazgos. La figura 1 muestra elevados R^2 cuando se predice la ED desde el contenido de fibra de los alimentos, con independencia del

tipo de análisis de fibra utilizado. La figura 2 muestra que el contenido de FC de los alimentos presentó una estrecha relación lineal ($R^2 > 95\%$) con su contenido de fibra expresado en términos de FDN y FDT. Esto posiblemente obedezca a la fuente de fibra empleada, que fue fundamentalmente de naturaleza insoluble. Si la fuente de fibra empleada hubiese tenido un mayor componente soluble y fermentable, los resultados podrían ser diferentes. En primer lugar, porque la FDT, a diferencia de la FC y la FDN, retiene todos los componentes de la pared celular, esto es, la fibra soluble e insoluble (Jung, 1997); en segundo lugar, por la posibilidad de fermentación de la fibra en el tracto posterior. En el trabajo de Muir et al. (1996), la inclusión de pectina (fibra soluble) en dietas para perros disminuyó la digestibilidad de nutrientes en el íleon distal, pero tuvo poco efecto sobre digestibilidad en el tracto total, mientras que la incorporación de celulosa resultó en inferiores valores de digestibilidad en el tracto total debido a su resistencia a la fermentación microbiana.

Valores de densidad energética observados y predichos

La predicción de ED (kcal/kg) realizada por las ecuaciones propuestas por Gröner y Pfeffer (1997) y el NRC (2006) presentó un ajuste sustancial con los datos observados, no obstante, la aplicación de la primera, en nuestro concepto, es de menor utilidad práctica al solicitar un mayor número de parámetros. La ecuación propuesta por Kienzle (1998b) sobrestimó el valor de ED en todos los tratamientos (3965, 3899, 3805, 3605 kcal/kg para T1, T2, T3 y T4, respectivamente), por lo cual presentó un CCC de 0.54, que hace referencia a un ajuste moderado.

En relación con la predicción del contenido de EM del alimento (kcal/kg), el EPR indicó que todas las ecuaciones propuestas realizaron una predicción satisfactoria, a excepción de la ecuación de Atwater (1902). Esta misma ecuación presentó el menor CCC como resultado de su menor exactitud en la predicción (C_b), lo cual puede obedecer al tipo de alimentos al que está dirigido su empleo (carne, pollo, pescado, productos almidonosos altamente purificados y productos lácteos). Estos alimentos presentan una digestibilidad superior a la registrada en los alimentos para mascotas, por lo que la ecuación de Atwater (1902) aplicada a dietas comerciales

para perros tiende a sobrevalorar las cifras de EM (Case et al., 2011). Específicamente con la ecuación de Atwater (1902), los valores la EM predichos para T1, T2, T3 y T4 fueron 4082, 4065, 4022, 3861 kcal/kg, respectivamente, mientras que los valores observados en el presente estudio fueron 3783, 3558, 3393, 3289 kcal/kg, indicando que con independencia del nivel de fibra en el alimento, el valor predicho fue superior. La ecuación de Atwater (1910), si bien presentó un ajuste moderado, tampoco se considera intercambiable con los valores observados. Los valores predichos con esta ecuación fueron 3645, 3633, 3600 y 3452 kcal/kg para T1, T2, T3 y T4, respectivamente. Se observa subestimación de la densidad energética para el tratamiento con el menor nivel de fibra (T1) y sobreestimación para los tratamientos con mayor nivel de fibra (T2, T3 y T4). Los estimadores de sesgo evaluados le confieren un ajuste casi perfecto a la EM estimada por el NRC (2006) (3646, 3539, 3400, 3314 kcal/kg para T1, T2, T3 y T4, respectivamente) respecto los valores observados. Se concluye que las ecuaciones propuestas por el NRC (2006) realizaron un predicción satisfactoria del contenido de ED y EM, producto de su mayor precisión (CCP) y exactitud (Cb).

Conclusiones

Un análisis completo de los resultados permite determina que la fibra es un nutriente de baja digestibilidad que cuando se incluye en niveles altos disminuye el consumo, la digestibilidad aparente de los nutrientes y el contenido energético de los alimentos para perros. La afectación en la digestibilidad varía entre nutrientes, siendo menor para la PC y el EE. Adicionalmente, el análisis de los estimadores de sesgo entre la densidad energética observada y los predicha (EPR, CCC, CCP, Cb) indicaron que las ecuaciones propuestas por el NRC (2006) realizaron una predicción satisfactoria del contenido de ED y EM, en relación con su valoración directa, por lo tanto se recomienda su utilización. Contrariamente los valores obtenidos por las ecuaciones descritas por Atwater (1902) y Atwater (1910) no fueron intercambiables, por lo tanto no se recomienda su uso.

Bibliografía

AAFCO. 2014. Association of American Feed Control Officials. Official Publication. Dog and cat nutrient profiles. Atlanta, GA. 87 pp.

AOAC. 1996. Official methods of analysis. 15th ed. Association of Official Analytical Chemists, Washington, D.C., USA.

AOAC. 2016. Official methods of analysis. 20th ed. Association of Official Analytical Chemists, Washington, D.C., USA.

AKC - American Kennel Club. 1994. Official Standard for the Labrador Retriever. 4 pp. URL: <http://cdn.akc.org/LabradorRetriever.pdf>

Atwater, W.O. 1902. Principles of Nutrition and Nutritive Value of Food, Farmer's Bulletin no. 142. U.S. Department of Agriculture, Washington, DC, 48 pp.

Atwater, W.O. 1910. Principles of nutrition and nutritive value of foods. Washington, D.C.: U.S. Department of Agriculture. Farmer's Bulletin. 142 pp.

Bartges, J. and Anderson, W.H. 1997. Dietary fiber. *Vet Clin. Nutr.* 4: 25-28.

Baudracco, J.; Comeron, E.A.; Villalobos, N.L.; Romero, L.A.; Scandolo, D.; Maciel, M.; Barry, T.N. and Holmes, C.W. 2013. Effects of herbage allowance on dry matter intake, efficiency of grazing, milk yield and grazing behaviour of crossbred Holstein-Jersey dairy cows grazing alfalfa pastures. *Adv. Dairy. Res.* 2: 109 pp.

Bosch, G.; Verbrugghe, A.; Hesta, M.; Holst, J.J.; Van der Poel, A.F.B; Janssens, G.P.J. and Hendriks, W.H. 2009. The effects of dietary fibre type on satiety-related hormones and voluntary food intake in dogs. *British Journal of Nutrition* 102: 318–325.

Burítica, E.; Barbosa, X. and Echeverry, D. 2009. Canine hepatocellular carcinoma: a case report. *Rev. MVZ Córdoba* 14(2):1756-1761.

Case, L.P.; Daristotle, L.; Hayek, M.G. and Raasch, M.F. 2011. Canines and Feline Nutrition, 3rd Edition. USA: Mosby Elsevier.

Castrillo, C.; Hervera, M. and Baucells, M.D. 2009. Methods for predicting the energy value of pet foods. R. Bras. Zootec. 38, 1-14.

Cerón-Muñoz, M.F.; Galeano, L.F. and Restrepo, L.F. 2013. Modelación aplicada a las ciencias animales: diseño experimental, con implementación del programa R-project. Fondo Editorial Biogénesis. Universidad de Antioquia. 84-97 pp.

Drochner, W. 1984. The influence of changing amounts of crude fibre and pectic components on precaecal and postileal digestive processes in the growing pig. Adv. Anim. Physiol. Anim. Nutr. 14:1 pp.

Dobenecker, B. and Kienzle, E. 1998. Interactions of Cellulose Content and Diet Composition with Food Intake and Digestibility in Dogs. J. Nutr. 128: 2674S–2675S.

Earle, K.E.; Kienzle, E.; Opitz, B., Smith PM and Maskell IE. 1998. Fiber Affects Digestibility of Organic Matter and Energy in Pet Foods. J. Nutr. 128: 2798S–2800S.

Euromonitor. 2014. The petfood report: Petfood Industry. URL: <http://www.euromonitor.com/dog-food>

Fahey, Jr, G.C.; Merchen, N.R.; Corbin, J.E.; Hamilton, A.K.; Serbe, K.A.; Lewis, S.M. and Hirakawa, D.A. 1990. Dietary fiber for dogs: I. Effects of graded levels of dietary beet pulp on nutrient intake, digestibility, metabolizable energy and digesta mean retention time. J ANIM SCI. 68: 4221-4228.

FEDIAF. 2014. European Pet Food Industry Federation. Nutritional Guidelines for Complete and Complementary Pet Food for Cats and Dogs. Bruxelles, Belgium. 41-44 pp.

Fuentes, P.J.; DeLorenzo, M.A.; Beede, D.K.; Staples, C.R. and Holter, J.B. 1996. Evaluation of equations based on animal factors to predict intake of lactating Holstein cows. J Dairy Sci 79: 1562-1571.

Fortes, C.M.L.S.; Carciofi, A.C.; Sakomura, N.K.; Kawauchi, I.M. and Vasconcellos, R.S. 2010. Digestibility and metabolizable energy of some carbohydrate sources for dogs. Animal Feed Science and Technology 156:121–125

Gómez, H. 2007. Estadística experimental aplicada a las ciencias agrícolas. Primera edición Universidad Nacional de Colombia. Medellín. 17: 437-443.

Gröner, T. and Pfeffer, R. 1997. Estimation of digestible energy in dry extruded dog foods. Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition, v.77, n.4-5, p.207-213, 1997.

Hand, S.M., Tatcher, C.D., Remillard, R.L., Roudebush, P., 2000. Small Animal Clinical Nutrition. 4th Edition, Hill's Pet Nutrition Inc. Mark Morris Institute. 465-498 pp.

Hervera, M.; Baucells, M.D.; Blanch, F. and Castrillo, C. 2007. Prediction of digestible energy content of extruded dog food by *in vitro* analyses. Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition. 91: 205–209.

Herschel, D.A.; Argenzio, R.A.; Southworth, M.; Steven CE. 1981. Absorption of volatile fatty acid, Na, and H₂O by the colon of the dog Am. J. Vet. Res. 42, 1118-1124.

Holdridge, L. 2000. El Diagrama de las zonas de vida. 5ª ed. Ecología basada en Zonas de Vida. Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura, IICA. San José de Costa Rica. 13-26 pp.

Howard, M.D.; Kerley, M.S.; Sunvold, G.D. and Reinhart GA. 2000. Source of dietary fiber fed to dogs affects nitrogen and energy metabolism and intestinal microflora populations. Nutrition Research. 20(10): 1473-1484.

ICONTEC - Instituto Colombiano de Normas Técnicas y Certificación. 1998. Productos químicos agrícolas. Método de ensayo para determinar el contenido de Calcio total. NTC 302. Bogotá D.C.

ICONTEC - Instituto Colombiano de Normas Técnicas y Certificación. 1999. Alimento para animales. Determinación del contenido de nitrógeno y cálculo del contenido de proteína cruda. Método Kjeldahl. NTC 4657. Bogotá D.C.

ICONTEC - Instituto Colombiano de Normas Técnicas y Certificación. 2000. Alimentos para animales. Determinación del contenido de humedad y materia volátil. NTC 4888. Bogotá D.C.

ICONTEC - Instituto Colombiano de Normas Técnicas y Certificación. 2001. Alimentos para animales. Determinación del contenido de fósforo. Método espectrofotométrico. NTC 4981. Bogotá D.C.

ICONTEC - Instituto Colombiano de Normas Técnicas y Certificación. 2001. Alimentos para animales. Determinación del contenido de grasa. NTC 4969. Bogotá D.C.

ICONTEC - Instituto Colombiano de Normas Técnicas y Certificación. 2007. Alimentos para animales. Determinación de ceniza cruda. NTC 4648. Bogotá D.C.

ISO - International Organization for Standardization. 1998. Animal feeding stuffs, animal products, and feces or urine -- Determination of gross calorific value -- Bomb calorimeter method. ISO 9831. Geneva, Switzerland.

Jewell, D.E. and Toll, P.W. 1995. Die Auswirkungen von Fasern auf die Futteraufnahme beim Hund (Efectos de las fibras en el consumo de alimento en perros). 41ª Reunión anual de las enfermedades en animales pequeños. Sección DVG . Proc. 22 (abs.).

Jung, H.J. 1997. Analysis of forage fiber and cell walls in ruminant nutrition. J Nutr. 127(5): 810S-813S.

Kawauchi, I.M.; Sakomura, N.K.; Vasconcellos, R.S.; Oliveira, L.D.; Gomes, M.O.S.; Loureiro, B.A. and Carciofi, A.C. 2011. Digestibility and metabolizable energy of maize gluten feed for dogs as measured by two different techniques. Animal Feed Science and Technology. 169: 96–103.

Kienzle E. 1993. Carbohydrate metabolism of the cat. Digestion of starch. Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition. 69(1-5): 102–114.

Kienzle, E. 1994. Effect of carbohydrates on digestion in the cat. J. Nutr. 124: 2568S-2571S.

Kienzle, E. 2002. Further developments in the prediction of metabolizable energy (ME) in pet food. American Society for Nutritional Sciences. J. Nutr. 132, 1796S–1798S.

Kienzle, E., Biourge, V. and Schonmeier, A. 2006. Prediction of energy digestibility in complete dry foods for dogs and cats by total dietary fiber. J. Nutr. 136: 2041S–2044S

Kienzle, E, Dobenecker B and Eber S. 2001. Effect of cellulose on the digestibility of high starch versus high fat diets in dogs. *J. Anim. Physiol. a. Anim. Nutr.* 85: 174-185.

Kienzle, E.; Meyer, H. and Schneider, R. 1991. Investigations on palatability, digestibility and tolerance of low digestible food components in cats. *J. Nutr.* 121: S56–S57.

Kienzle, E. Opitz B, Earle KE, Smith PM, Maskell IE. 1998a. The influence of dietary fibre components on the apparent digestibility of organic matter and energy in prepared dog and cat foods. *J Anim Physiol Anim Nutr.* 79:46–56.

Kienzle, E.; Opitz, B. and Earle, K.E. 1998b. The development of an improved method of predicting the energy content in prepared dog and cat food. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, 79(2): 69-79.

Lin, L.I.K. 1989. A concordance correlation coefficient to evaluate reproducibility. *Biometrics* 45: 255-268

Lôbo Jr., M.F.; Rezende, A.S.C.; Saliba, E.O.S. and Sampaio, I.B.M. 2001. Coeficientes de digestibilidade aparente pelos métodos de indicadores e coleta total de fezes em cães. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.*, 53(6): 691-694.

McDowell, L.R. 2003. *Minerals in Animal and Human Nutrition*. 2nd ed. Elsevier, Amsterdam. 644 pp.

Meyer, H.; Arndt, J.; Behfeld, T.; Elbers, H. and Schunemann, C. 1989. La digestibilidad ileal y post-cecal con diferentes proteínas. *Adv. Anim. Physiol. Anim. Nutr.* 19: 59 pp.

Muir, H. E.; Murray, S.M.; Fahey, Jr.G.C.; Merchen, N.R. and Reinhart, G.A. 1996. Nutrient digestion by ileal cannulated dogs as affected by dietary fibers with various fermentation characteristics. *J Anim Sci.* 74:1641-1648.

NRC - National Research Council. 2006. *Nutrient Requirements of dogs and cats.* Washington, DC: The National Academies Press.

Orlindo, L. 2006. Assessment of the adequacy of mathematical models. *Agricultural Systems* 89: 225–247.

Osorio-Carmona, E.; Giraldo-Carmona, J. and Narváez-Solarte, W. 2012. Metodologías para determinar la digestibilidad de los alimentos utilizados en la alimentación canina. *vet.zootec.* 6(1): 87-97.

Pappas, T.N.; Debas, H.T.; Chang, A.M. and Taylor, I.L. 1986. Peptide YY release by fatty acids is sufficient to inhibit gastric emptying in dogs. *Gastroenterol.* 91:1386.

Prosky, L.; Asp, N.G.; Furda, I.; Devries, J.W.; Schweizer, T.F. and Harland, B. 1985. The determination of total dietary fiber in foods, food products: collaborative study. *J. Assoc. Off. Anal. Chem.* 68: 677–679.

Riklin, M. and Meyer, H. 1975. Investigations on the importance of crude wood products in canine nutrition. *Kleintierpraxis* 20: 1–36.

Sabchuk, T.T.; Portella A.; Grigoletto, J.; Guimarães, L.; Gisele de Oliveira, S. and Maiorka, A. 2012. Digestibility and behavior of dogs housed in kennels or metabolic cages. *R. Bras. Zootec.* 41: 118-122.

Schulze, K. 1987. Investigations on digestibility in mixed feeds for horses and evaluation of digestible energy.) Doctoral thesis, Veterinarian University, Hannover, Germany. 1 pp.

Sunvold, G.D.; Fahey, G.C.; Merchen, N.R.; Bourquin, L.D.; Titgemeyer, E.C.; Bauer, L.L. and Reinhart, G.A. 1995. Dietary fiber for cats: in vitro fermentation of selected fiber sources by cat fecal inoculum and in vivo utilization of diets containing selected fiber sources and their blends. *J Anim Sci.* 73(8):2329-39.

Yamka, R.M.; McLeod, K.R.; Harmon, D.L.; Freetly, H.C. and Schoenherr, W.D. 2007. The impact of dietary protein source on observed and predicted metabolizable energy of dry extruded dog foods. *J. Anim. Sci.* 2007. 85:204–212.

Van Soest, P.J. 1973. The uniformity and nutritive availability of cellulose, *Fed Proc.* 32, 1804-1808.

Zentek, J., 1993. Studies on the effect of feeding on the microbial metabolism in the intestinal tract of dogs.

Conclusiones generales.

Para investigaciones que involucren comparaciones entre métodos, como es el caso de la CT vs. el MI, o para validar si una ecuación (como aquellas reportadas en la literatura para predecir ED y EM) realiza una predicción confiable de los datos observados, los métodos estadísticos correspondientes a comparación de medias o análisis de correlación, no son adecuados para valorar la intercambiabilidad, dado que no miden la concordancia entre variables. Por tanto, otras técnicas como el CMEP, EPR y el CCC deben ser tenidas en cuenta.

Un análisis completo de los resultados permite determinar que la fibra es un nutriente de baja digestibilidad que cuando se incluye en niveles altos disminuye el consumo, la digestibilidad aparente de los nutrientes y el contenido energético de los alimentos. La afectación en la digestibilidad es además variable entre nutrientes. Asimismo, se logró esclarecer que el efecto de la fibra se focaliza a nivel digestivo, dado que la pérdida de EB en la orina no fue afectada por el nivel de fibra de la dieta. Conjuntamente, los resultados indican que la ED puede predecirse con bastante precisión desde el contenido de FC, FDN y FDT, no obstante, la magnitud en la reducción de la digestibilidad cuando se aumenta su participación de fibra en la dieta dependen del método de determinación de fibra y la fuente de fibra utilizada. En este caso, el aditivo empleado tuvo elevada participación de celulosa y hemicelulosa (fibra insoluble), por ende la magnitud en la reducción de la digestibilidad fue mayor cuando se empleó el método de FC.

Adicionalmente, dado que el MI no es confiable para estudiar la digestibilidad de la fibra por la gran variabilidad en los datos obtenidos, y entendiendo que la fibra es el nutriente que efectivamente determina la densidad energética de las raciones, con una muy buena aproximación de la ED se recomienda única y exclusivamente el uso del método de CT en jaulas metabólicas en estudios que pretendan estudiar la digestibilidad de la fibra y con ello estimar la densidad energética del alimento.

La determinación directa de la ED y la EM es laboriosa, requiere de tiempo y dinero. Basados en los resultados aquí presentados, se considera factible utilizar la ecuación descrita por el NRC (2006) para predecir estos valores con la suficiente precisión y exactitud. No obstante, para el resto de fracciones nutricionales las metodologías directas son la mejor opción.

Anexo 1.

Cartas de aceptación de la Revista Archivos de zootecnia para evaluación y publicación correspondiente al manuscrito del Capítulo 1.

GESTOR DEL AUTOR: Juan C. Duque-Saldarriaga . Correo del Editor pa1gocag@uco.es

1 Datos del Trabajo.

Trabajo : 3776
Título : REVISION Assessment of energy content in dog foods: A review
Fecha : 5/10/2015
Autor : Juan C. Duque-Saldarriaga
[Archivo Original](#)

2 Comunicaciones respecto al trabajo

Fecha	Quien	Observaciones	Adjuntados
14/4/2016	Editor AZ	Estimado/a amigo/a: Le adjunto las evaluaciones de su trabajo 3776 Título : REVISION Assessment of energy content in dog foods: A review Para aclarar las dudas que puedan surgir tanto a evaluadores como al Consejo de Redaccion a la hora de tomar una decisió, le ruego las considere atentamente y me envíe a la mayor brevedad, antes de tres meses (ES IMPRESCINDIBLE PARA CONTINUAR EL PROCESO DE EVALUACION): - Una nueva version anónima acorde con lo solicitado RESALTANDO ADECUADAMENTE los cambios realizados en relación a TODOS Y CADA UNO de los comentarios de los evaluadores y justificando su desacuerdo si no los ha tenido en cuenta. El procedimiento mas adecuado es hacer los cambios con "control de cambios" activado e incluir como comentario la explicación pertinente; - Una relación de las cuestiones planteadas por los evaluadores y la respuesta dada a cada una de ellas - Tambien debe enviar un documento en que se recoja la redacción final COMPLETA (titulo, autores, etc) del manuscrito de acuerdo a las normas de autores de la revista. Un cordial saludo Prof. Dr. Gómez Castro Director Archivos de Zootecnia	Archivo
5/10/2015	Editor AZ	Estimado/a colega: Hemos recibido su trabajo numero 3776 Título : REVISION Assessment of energy content in dog foods: A review, remitido para publicacion en Archivos de Zootecnia. Sera considerado en la proxima sesion del Consejo de Redaccion, en la que, si procede, se le asignaran dos evaluadores de cuyos comentarios le mantendre informado. El numero asignado a su articulo debiera ser empleado en toda la correspondencia relativa al mismo La remisión de este trabajo supone la aceptación de las normas de autores y la declaración expresa de haber cumplido las normas establecidas por el respectivo comité ético, ser trabajo original, de no haberlo publicado anteriormente por ningun procedimiento, ni remitido a otra revista. Asimismo el trabajo no podrá ser retirado de publicación sin el consentimiento expreso de Archivos de Zootecnia. Si lo desea (es muy conveniente) puede proponer el nombre de dos o mas evaluadores, ajenos a los autores y su centro de trabajo, que puedan analizar su trabajo enviando a pa1gocag@uco.es los siguientes datos: Numero del trabajo, Nombre del propuesto, Afiliacion (centro de trabajo), Ciudad y País, Especialidad de investigacion y correo electrónico. Para conocer mas sobre los tiempos editoriales puede consultar los Informes editoriales de la revista Archivos de Zootecnia que se publican en el primer numero de cada año y puede consultar en nuestra web: http://www.uco.es/organiza/servicios/publica/az/az.htm Un cordial saludo y muchas gracias por su colaboracion. Prof. Dr. A.G. Gomez Castro Director Archivos de Zootecnia	

3 Comuníquese con el Editor

Justificación de los cambios realizados:

2.

La Guía para autores de la Revistas Archivos de Zootecnia se puede visualizar en el siguiente link o ampliando las fotos que se presentan a continuación:

http://www.uco.es/organiza/servicios/publica/az/php/img/web/14_10_46_espanol_nu_eva.pdf



ARCHIVOS DE ZOOTECNIA

GUÍA PARA AUTORES

Información General

Archivos de Zootecnia es una revista científica internacional multilingüe de periodicidad trimestral, editada por la Universidad de Córdoba y la Asociación Iberoamericana de Zootecnia con la finalidad de difundir los resultados de la investigación en Producción Animal y áreas afines, con especial atención a los sistemas ganaderos de las zonas desfavorecidas y en vías de desarrollo, sus razas locales y las producciones alternativas.

Fundada como órgano de expresión científica del Instituto de Zootecnia de la Facultad de Veterinaria de Córdoba en 1952, constituye la revista más antigua de Producción Animal en España. Actualmente, es la revista oficial de la Asociación Iberoamericana de Zootecnia y de la Sociedad Española Para Los Recursos Genéticos Animales (SEZGA) y se dirige a investigadores, técnicos y empresarios agroganaderos de más de 70 países en versión impresa y en **versión electrónica** con acceso desde todo el mundo.

Archivos de Zootecnia acepta contribuciones en los formatos de artículo, nota breve o revisión bibliográfica (sólo en la versión electrónica de la revista), en las siguientes áreas:

- Pastos, Forrajes y Conservación de forrajes;
- Alimentación y Nutrición;
- Genética;
- Conservación de la Biodiversidad de los animales domésticos;
- Reproducción;
- Biología, Etología y Bienestar Animal;
- Biología;
- Calidad de los productos animales y Trazabilidad;
- Producción Ganadera Ecológica y Alternativa;
- Sanidad Animal y Seguridad Alimentaria;
- Sistemas ganaderos, Sustentabilidad y Desarrollo Rural;
- Economía y Gestión de Empresas Ganaderas;

Y en general, todo lo relativo a la Producción Animal con especial atención a las zonas desfavorecidas y en vías de desarrollo, sus razas locales y las producciones alternativas.

Las contribuciones deben ser originales e inéditas, resultado de investigación teórica o experimental y que no estén sometidas a evaluación por otras revistas. Las investigaciones de las que únicamente se hubieran publicado avances en forma de resumen serán susceptibles de publicación. La publicación de trabajos en **Archivos de Zootecnia** es gratuita, asimismo los autores recibirán sin cargo suscripciones de su trabajo.

Todas las contribuciones son sometidas a un proceso de evaluación doble ciego por al menos dos especialistas de reconocido prestigio investigador en la materia, remediando a un tercer evaluador en caso de importantes discrepancias en los informes emitidos por los evaluadores inicialmente designados o en trabajos que requieran una profunda revisión metodológica.



ARCHIVOS DE ZOOTECNIA

Remisión de contribuciones

Archivos de Zootecnia acepta contribuciones en español, inglés, francés, portugués e italiano. Las contribuciones se remitirán con el título, las palabras clave adicionales, el resumen y los títulos de figuras y tablas traducidos a inglés. Si el idioma de la contribución es el inglés, las traducciones deben hacerse a cualquiera de los otros idiomas oficiales.

Los trabajos se remitirán preferentemente a través de la guia@az.uco.es de la revista **Archivos de Zootecnia**, aunque también pueden enviarse a la Oficina Editorial por correo electrónico o por correo convencional (Oficina Editorial de Archivos de Zootecnia, Edificio de Producción Animal – Campus Rabalerales, 14014 Córdoba, España).

Los autores enviarán con la contribución una **carta de presentación**, firmada por todos ellos en la que se dan conformidad a la publicación, indicando que los resultados expuestos no han sido publicados en otro lugar ni están siendo sometidos a otra revista. Asimismo, podrán indicar el nombre y la dirección postal y/o electrónica de dos evaluadores potenciales de la contribución. Las contribuciones que impliquen experimentación con animales deben indicar el cumplimiento de las normas establecidas por los comités éticos y de bienestar animal del país en el que se ha desarrollado la experiencia.

Formato y estructura de las contribuciones

Toda la contribución se incluirá en un solo archivo, donde aparezca en primer lugar el texto, en segundo lugar las tablas y finalmente las figuras, que deberán ser de suficiente calidad. Tanto las tablas como las figuras deben aparecer con sus títulos y separadas entre sí por un salto de página. El tamaño de los archivos no será superior a 2 megabytes.

El texto del trabajo se presentará en formato Word, tamaño A4, margen izquierdo: 2 cm, superior, derecho e inferior: 1,5 cm, letra Times New Roman 11, interlineado exacto, 14 puntos.

En el formato de la revista, los artículos tendrán una extensión máxima de 12 páginas (3000 caracteres incluyendo blancos), las notas breves de 4 páginas (1000 caracteres incluyendo blancos) y aunque no hay límite preestablecido para los trabajos de revisión que se publicarán sólo en la versión on-line de **Archivos de Zootecnia**, es aconsejable una extensión similar a la de los artículos. Para revisiones que superen esta restricción, la Oficina Editorial podrá limitar su extensión si lo estima oportuno.

El estilo e indicación de capítulos en el texto será con las mínimas instrucciones de formato, sólo las necesarias para entender la jerarquía entre secciones y el adecuado a cada palabra (p.e. itálicas para nombres latinos, etc.). NO usar el formato TODO MAYÚSCULAS.

Los Artículos se estructurarán en el siguiente orden: Título, Título reducido, Título en el segundo idioma, autores e afiliaciones, palabras clave, palabras clave en el segundo idioma, resumen, resumen en el segundo idioma, introducción, material y métodos, resultados, discusión (o resultados y discusión), conclusiones, agradecimientos y financiación, y bibliografía.

Las Notas Breves consistían en avances de trabajos de investigación, noticias de interés científico o comentarios críticos a trabajos publicados en **Archivos de Zootecnia**. Se adaptarán en su estructura a lo indicado para los artículos. Las Notas breves, deben incluir obligatoriamente Título, autores, dirección, palabras clave



ARCHIVOS DE ZOOTECNIA

adicionales resumen y bibliografía y las correspondientes traducciones a un segundo idioma.

Las **Revisiones Bibliográficas**, deben incluir obligatoriamente Título, autores, dirección, palabras clave adicionales (resumen) y bibliografía y las correspondientes traducciones a un segundo idioma. La organización del texto es libre, aunque debe seguir un orden lógico.

- **Título.** Debe ser breve e informativo del objetivo y contenido del trabajo. Su extensión máxima será de dos líneas en el formato de la revista (unos 90 caracteres aproximadamente, blancos incluidos). Asimismo se debe incluir un título abreviado de menos de 60 caracteres, blancos incluidos.
- **Autores.** El nombre de los autores irá en minúscula: el primer autor: Apellido, Inicial y los siguientes autores: Inicial Apellido, separados por comas. La dirección, incluirá la Dirección Postal Institucional completa y el correo electrónico de todos y cada uno de los autores, identificando al autor para correspondencia. Por ejemplo:
Gómez, A.G.¹, J. Pérez¹, A. García¹ y M. Romero²
1. Departamento de Producción Animal, Universidad de Córdoba, Edificio de Producción Animal – Campus Rabalerales, Carretera Madrid – Cádiz km. 396, 14014 Córdoba. *Autor para correspondencia: – mail: p.gonz@uco.es

- **Palabras Clave.** Las palabras clave son adicionales (no estarán incluidas en el título) y serán explícitas de otros aspectos de interés tratados en el trabajo. No deben incluir palabras sin contenido muy concreto y bien delimitado. Estas palabras tienen gran importancia ya que se incorporan en los distintos motores de búsqueda y bases de datos.

- **Resumen.** Debe describir el propósito del estudio, citar la metodología empleada muy sucintamente, resaltar los resultados principales e indicar las conclusiones principales. Debe ser suficientemente sucinto, informativo, explícito e inteligible para comprender el trabajo sin necesidad del texto e inducir a su lectura por los científicos a quienes pueda interesar.

- **Introducción.** Debe ser breve. Se enfocará sobre los antecedentes y situación actual del objeto del estudio, justificando el interés del mismo en Producción Animal y explotando claramente al final los objetivos del trabajo.

- **Material y métodos.** La experiencia se debe detallar suficientemente para permitir que cualquier otro investigador pueda replicarlo. Se debe detallar aquellos aspectos singulares de la experiencia y por otro lado se deben evitar detalles metodológicos, procedimientos, etc. que están recogidos en trabajos previos suficientemente detallados. No obstante en cualquier caso hay que referenciar suficientemente el tamaño de la muestra, la edad, el sexo, la raza-variedad, la procedencia de los animales, características de los alimentos, situaciones experimentales.

Asimismo es importante reseñar las mediciones y controles realizados, así como las condiciones medioambientales en las que se desarrolla la experiencia. En el caso de animales en cuarentena hay que detallar el manejo (frecuencia de la limpieza, tamaño y composición del grupo, etc.) y las instalaciones utilizadas (tamaño, temperatura, etc.). En el apartado de metodología se ha de incluir la descripción de los procedimientos estadísticos utilizados.



ARCHIVOS DE ZOOTECNIA

- **Resultados.** Incluir solamente los resultados relevantes en relación con las hipótesis señaladas en la introducción y que van a ser consideradas en la discusión. El texto debe apoyarse y complementar las tablas o figuras sin repetir información.
- **Discusión.** El propósito principal de la discusión (que puede unirse al capítulo de Resultados si así se estima oportuno) es comentar la significación de los resultados y fijarlos en el contexto de trabajos previos. La discusión debe ser sucinta y no especulativa debiendo conducir a las conclusiones del trabajo.
- **Agradecimientos:** Los autores deberán declarar explícitamente la fuente de financiación de la investigación y podrán agradecer brevemente cualquier colaboración, reconociendo el trabajo de instituciones o personas cuyas contribuciones no justifican la autoría. Se recomienda que aparezca el nombre, la filiación y la colaboración prestada (especifica científica, recogida de datos, etc.). La fuente de financiación de la investigación debe aparecer explícitamente en los agradecimientos, reconociendo el apoyo y especificando la naturaleza del mismo (proyecto de investigación, apoyo material, etc.).
- **Bibliografía.** La citación de los trabajos relacionados con el tema de la contribución publicados anteriormente en **Archivos de Zootecnia**, no es obligatoria, pero ayudará a mejorar el impacto de la revista y consiguientemente su valoración. La Oficina Editorial de la revista podrá sugerir la inclusión de alguna cita significativa. Buena parte de los números de **Archivos de Zootecnia**, están disponibles a texto completo y gratuitamente en la [versión electrónica](http://www.az.uco.es).

Para los referencias en el texto, se deben poner los apellidos de uno o dos autores, pero solamente el apellido del primer autor, seguido por et al. cuando sean tres o más. Las citas de referencia en el texto pueden ser: "Según indican García et al. (2006)..." o también método de Biss (Sokal y Rohlf, 1981; Davies et al., 2003).

Se debe comprobar que todas las referencias que aparecen en el texto están en el apartado de Bibliografía y viceversa, y que están bien referenciados (autores, año, título, revista, volumen, páginas, etc.). Se deben comprobar cuidadosamente las referencias de idiomas extranjeros.

La relación de bibliografía citada se presentará ordenada alfabéticamente por autores (los repetidos, por orden cronológico) y si son del mismo año, abreviado a este una letra, a, b, c, etc., indicando autores (todos), año, título, revista (se abreviará de acuerdo con la lista del ISI, disponible en <http://www.efm.leeds.ac.uk/~mark/ISIabbr/abbrj.html>), volumen: primera-última página. Por ejemplo:

Barrow, N.J. 1967. Return of nutrients by animals. In: R.W. Graydon (Ed.) *Managed Grazing*, B. Agricultural Studies pp. 181-186. Elsevier Science Publishers B.V., Amsterdam.

Nasir, A.S. and J.C. Maloney. 1988. Estimating digestibility of oat forage diets for goats by *in vitro* techniques. *J. Range Manage.* 42: 225-228.

En los trabajos aceptados y en prensa indicar autores (todos), título, revista y (en prensa) o (aceptado) según corresponda en lugar de la fecha. Los trabajos aun no aceptados, no se reseñarán en la lista bibliográfica. Las consultas en páginas web se citarán, siguiendo la misma técnica, autor, año título dirección web, y fecha de consulta.

- **Tablas y Figuras.** Las tablas y las figuras deben ser tan claras y simples como sea posible y hacerlas comprensibles y referencia al texto:
* Utilizar números árabes para numerar las figuras y romanos para las tablas.



ARCHIVOS DE ZOOTECNIA

- * Los títulos de tablas y figuras deben ser cortos, pero suficientes para entender su contenido sin necesidad del texto.
- * La versión impresa de la revista no admite colores, por lo que las figuras deben de ser comprensibles en escala de grises. Los símbolos identificadores preferidos en las figuras son círculo, cuadrado y triángulo abiertos o llenos. La trama negra sólida no debe ser empleada.
- * Dar la información adicional como nota al pie de tabla o figura.
- * Las tablas han de ser lo suficientemente cortas como para que no haya que doblarlas.
- * Las tablas no deben contener líneas verticales ni horizontales.
- * Las tablas grandes deben ser estrechas y largas mejor que anchas y cortas, para adaptarse al ancho de la columna de la revista.
- * Las figuras deben ser bastante grandes para permitir su reproducción con calidad y se deben diseñar con arreglo a las dimensiones de las columnas o bloques columnas de la revista.
- * Los símbolos y leyendas se deben dibujar dentro de los ejes de la figura.
- * La leyenda debe situarse de modo que permita el máximo aprovechamiento de la columna, generalmente dentro de los ejes.
- * La Oficina Editorial podrá reeditar y etiquetar, o solicitarlo de los autores, figuras y tablas cuando sea necesario para adaptarse al estilo de la revista.

Procedimiento editorial

Recibida una contribución, se asigna el correspondiente registro de entrada por la Oficina Editorial y se informa al autor responsable de la correspondencia la recepción del manuscrito. La Oficina Editorial revisa la adecuada presentación formal con arreglo a las normas de la revista y reenvía al autor la realización de los cambios necesarios para ajustarse a ellas.

Una vez recibida una versión correcta de la contribución, se le asigna un Ponente elegido por el Consejo de Redacción, quien es un especialista en el tema, con experiencia en trabajos de edición científica.

El Ponente revisa la contribución original con el auxilio del Consejo Asesor y elabora un dictamen inicial justificando la aceptación para evaluación o el rechazo de la contribución; que será ratificado por el Director y notificado a los autores por vía de la Oficina Editorial. Asimismo, selecciona los **evaluadores**, bien sea usando el banco de evaluadores propio de **Archivos de Zootecnia**, a partir de la consulta complementaria de bases de datos bibliográficas, o bien siguiendo la sugerencia de los autores del manuscrito.

Es responsabilidad de la Oficina Editorial contactar con los evaluadores y, una vez aceptada la labor de evaluación, permitir el acceso de los evaluadores al manuscrito anónimo y al **formulario de evaluación**. La evaluación se realiza **on-line** en la **web** de **Archivos de Zootecnia**.

Una vez finalizada la evaluación, la Oficina Editorial remite al Ponente los informes emitidos por los evaluadores. El Ponente elabora el dictamen (aceptación, aceptación con correcciones o rechazo), justificándolo y complementando las observaciones de los evaluadores. En caso de aceptación o aceptación con correcciones, el Ponente también puede corregir la redacción, ortografía, sintaxis, gramática, de manera que las



ARCHIVOS DE ZOOTECNIA

ideas estén expresadas de manera correcta, clara, precisa y coherente. El dictamen será ratificado por el Director y enviado a los autores a través de la Oficina Editorial. Los autores deberán elaborar una nueva versión del trabajo antes de 30 días y remitirla acompañada de una carta en la que se indique la forma en que se han tenido en cuenta dichas evaluaciones o por el contrario justificando por qué no se han asumido.

Si los evaluadores y el Ponente prestan su conformidad, el trabajo será aprobado por el Director para publicación en forma de artículo, nota breve, revisión bibliográfica o rechazado en caso contrario. De ese acuerdo, se dará cuenta a los autores a través de la Oficina Editorial. En todo caso, la aceptación final de una contribución es responsabilidad del Director de **Archivos de Zootecnia**, quien la remitirá a los autores a través de la Oficina Editorial.

La Oficina Editorial realiza una conexión del estilo (redacción, ortografía, sintaxis, gramática, expresión) de las contribuciones aceptadas y remite las pruebas de edición a los autores con el fin de comprobar errores gramaticales o erratas en la composición. La Oficina Editorial remitirá un **formulario de evaluación** que, de modo voluntario y anónimo, los autores podrán cumplimentar colaborando así con la mejora de la calidad de **Archivos de Zootecnia**.

Las contribuciones aceptadas se publicarán con la mayor prioridad posible tanto en la versión impresa como electrónica de la revista, teniendo en cuenta el interés para los lectores y la extensión de la contribución. En ambos casos los trabajos son de acceso gratuito y los autores aceptan su publicación sin que se devengue por ello ninguna compensación en concepto de derechos de autor, aparte de la gratuidad de publicación. En el caso de las revisiones bibliográficas sólo se publicarán en la versión electrónica.