



**ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO**  
**FACULTAD DE CIENCIAS**  
**ESCUELA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA**

**COMPARACIÓN DE TRES TIPOS DE ENSAYOS DE**  
**DIGESTIBILIDAD “in vitro” DE ALFALFA (*Medicago sativa*) CON**  
**LA DIGESTIBILIDAD “in vivo” EN CUYES (*Cavia porcellus*)**

Trabajo de titulación previo a la obtención del grado académico de:  
**BIOQUÍMICO FARMACÉUTICO**

**AUTOR:**  
**GABRIELA DEL CARMEN ABARCA PINO**

**RIOBAMBA – ECUADOR**

**2015**



**ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO**  
**FACULTAD DE CIENCIAS**  
**ESCUELA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA**

**COMPARACIÓN DE TRES TIPOS DE ENSAYOS DE**  
**DIGESTIBILIDAD “in vitro” DE ALFALFA (*Medicago sativa*) CON**  
**LA DIGESTIBILIDAD “in vivo” EN CUYES (*Cavia porcellus*)**

Trabajo de titulación previo a la obtención del grado académico de:  
**BIOQUÍMICO FARMACÉUTICO**

**AUTOR: GABRIELA DEL CARMEN ABARCA PINO**  
**TUTOR: ING. PAOLA ARGUELLO MS.C**

**RIOBAMBA – ECUADOR**

**2015**

**ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO**  
**FACULTAD DE CIENCIAS**  
**ESCUELA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA**

El Tribunal de Tesis certifica que: El trabajo de investigación: “COMPARACIÓN DE TRES TIPOS DE ENSAYOS DE DIGESTIBILIDAD “in vitro” DE ALFALFA (*Medicago sativa*) CON LA DIGESTIBILIDAD “in vivo” EN CUYES (*Cavia porcellus*).”, de responsabilidad de la señorita egresado Gabriela del Carmen Abarca Pino, ha sido prolijamente revisado por los Miembros del Tribunal de Tesis, quedando autorizada su presentación.

FIRMA

FECHA

Ing. Paola Arguello Ms.C

**DIRECTOR DE TESIS**

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

Ing. Patricio Guevara Ms.C

**MIEMBRO DE TRIBUNAL**

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

**COORDINADOR**

**SISBIB ESPOCH**

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

**NOTA DE TESIS ESCRITA**

\_\_\_\_\_

Yo, (Gabriela del Carmen Abarca Pino), soy responsable de las ideas, doctrinas y resultados expuestos en esta Tesis; y el patrimonio intelectual de la Tesis de Grado, pertenece a la ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO

---

**GABRIELA DEL CARMEN ABARCA PINO**

## **DEDICATORIA**

A mi Dios y Salvador por ser mi fuente de sabiduría e inspiración para alcanzar mis metas y sueños planteados, y permitirme terminar mi carrera con éxito.

A mi madre Margarita Pino por enseñarme el valor de la constancia, dedicación y humildad en cada uno de mis aspectos de vida; a mi novio Jhonny Orozco por enseñarme el valor de la perseverancia y amor; a mi hermana Victoria Abarca por darme la fuerza necesaria en momentos de debilidad y a mi prima Verónica Pino que todos estos años me ha enseñado el valor de los estudios y se ha convertido como una hermana para mí.

A mis familiares y amigos por ser mi apoyo y parte muy especial en mi vida.

Gabriela

## **AGRADECIMIENTO**

A mi Dios por guiar cada uno de mis pasos, cuidarme y llevarme con éxito a mi vida profesional.

A la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo por los conocimientos que me ha brindado.

A mi madre por ser fuente de voluntad y pilar fundamental en mi vida, a mi novio por su apoyo incondicional, a mi familia por su comprensión y a todos quienes me han apoyado.

Un gran agradecimiento especial a los docentes: A mi directora de tesis, Ing. Paola Arguello Ms. C; a mi asesor Ing. Patricio Guevara Ms. C y BQM. Sandra López por su colaboración para la culminación de este trabajo de investigación.

Gabriela

## RESUMEN

Se comparó tres tipos de ensayos de digestibilidad “in vitro” utilizando: fluido ruminal, enzimas y licor cecal del cuy con el ensayo in vivo, para determinar el óptimo tratamiento que se asemeje al ensayo in vivo, elaborando pellets de alfalfa joven F1 (corte de 30 días) y madura F2 (corte de 45 días); investigación que se realizó en el Laboratorio de Bromatología y Nutrición Animal de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo. Los resultados fueron analizados mediante el análisis de varianza ANOVA de un factor y comparados con el test de TUKEY. Se analizó la composición física y química de la alfalfa con diferente tiempo de corte, presentando diferencia en el porcentaje de nutrientes y en las características físicas. La digestibilidad “in vivo” y “in vitro” de la alfalfa joven fue mayor, comparada con la alfalfa madura en los diferentes métodos de ensayos utilizados, para F1 en la digestibilidad “in vivo” fue de 53,64% y para F2 de 47,72%, en la digestibilidad “in vitro”, en licor cecal el resultado fue para F1 de 55,46% y para F2 de 49,90%, en enzimas fue para F1 de 71,01% y para F2 de 66,34% y para fluido ruminal para F1 de 76,19% y para F2 de 74,70%. Se determina en la investigación que el método más óptimo al ensayo in vivo es la del licor cecal, debido a que presenta la menor diferencia en la alfalfa joven con el 1,81 % y con la alfalfa madura con el 2,18%. Se recomienda continuar con la investigación en la técnica de digestibilidad in vitro de fluido ruminal y enzimático para conocer cuál sería el tiempo óptimo de incubación que se semeje a la técnica de digestibilidad “in vivo”.

**Palabras claves:** <DIGESTIBILIDAD “IN VIVO”> <DIGESTIBILIDAD “IN VITRO”>  
<PELLETS DE ALFALFA> <FLUIDO RUMINAL> <ENZIMAS> <LICOR CECAL>  
<FIBRA>

## SUMMARY

Three types of essays were compared of digestibility “in vitro” utilizing: rumen fluid, enzymes, cecal liqueur of guinea pig with the essay alive, to determine the optimal treatment that resembles to the live essay, elaborating young alfalfa pellets F1 (cut 30 days) and mature F2 (cut 45 days); research that was realized in the Animal Nutrition and Food Science Laboratory at Polytechnic School of Chimborazo. The results were analyzed through variance analysis ANOVA of a factor compared with the TUKEY test. It was analyzed the alfalfa physical and chemical composition with different time of cut. Presenting the difference in the percentage of nutrients and in the physical characteristics. The digestibility “alive” and “in vitro” of young alfalfa was higher, compared with the mature alfalfa in the different methods of utilized essays, for F1 in the digestibility “alive” was 53,64% and for F2 was 47,72%, in digestibility “in vitro”, in cecal liqueur, the result was for F1 55,46% and for F2 was 49,90%, in enzymes for F1 were 71,01% and for F2 was 66,34% and for rumen fluid for F1 was 76,19% and for F2 was 74;70%. Research had determined that the most optimal method to the essay alive is the cecal liqueur, since it presents the smallest difference in young alfalfa with the 1,81% and with the mature alfalfa with the 2,18%. It was recommended continue with the research in the technique of digestibility in vitro of rumen fluid and enzyme to know which will be the optimal time of incubation that compared to the technical of digestibility “alive”.

**Clue words:** <DIGESTIBILITY “ALIVE”> <DIGESTIBILITY “IN VITRO”> <ALFALFA PELLETS> <RUMEN FLUID> <ENZYMES> <CECAL LIQUEUR> <FIBER>



## ÍNDICE GENERAL

<b>RESUMEN</b> .....	iii
<b>SUMMARY</b> .....	iv
<b>INTRODUCCIÓN</b> .....	1
<b>CAPÍTULO I</b> .....	2
1. <b>MARCO TEÓRICO</b> .....	2
1.1. Alfalfa ( <i>Medicago sativa</i> ).....	2
1.1.1. <i>Generalidades</i> .....	2
1.1.2. <i>Composición química</i> .....	2
1.1.2.1. <i>Muestra seca</i> .....	3
1.1.2.2. <i>Proteína cruda</i> .....	3
1.1.2.3. <i>Extracto etéreo</i> .....	3
1.1.2.4. <i>Carbohidratos</i> .....	4
1.1.2.5. <i>Minerales</i> .....	4
1.2. Digestibilidad.....	4
1.3. Tipos de digestibilidad.....	5
1.3.1. <i>Método "in vivo"</i> .....	5
1.3.1.1. <i>Ventajas y desventajas</i> .....	6
1.3.2. <i>Método "in vitro"</i> .....	6
1.3.2.1. <i>Ventajas y desventajas</i> .....	8
1.4. Digestibilidad de la alfalfa en cuyes.....	8
1.4.1. <i>Anatomía y fisiología digestiva del cuy</i> .....	8
1.4.2. <i>Microorganismos de tracto digestivo del cuy</i> .....	9
<b>CAPÍTULO II</b> .....	11
2 <b>PARTE EXPERIMENTAL</b> .....	11
2.1. Lugar de pruebas de ensayo.....	11
2.2. Materia prima.....	11
2.2.1. <i>Alfalfa (Medicago sativa)</i> .....	11
2.2.2. <i>Pellet</i> .....	11
2.3. Materiales, equipos y reactivos.....	12
2.3.1. <i>Materiales</i> .....	11
2.3.2. <i>Equipos</i> .....	13
2.3.3. <i>Reactivos</i> .....	13

2.4	Técnicas.....	14
2.4.1.	<i>Análisis físico</i> .....	14
2.4.1.1.	<i>Determinación de la solubilidad</i> .....	14
2.4.1.2.	<i>Capacidad de absorción de agua (método de centrifugación)</i> .....	15
2.4.1.3.	<i>Capacidad buferante ácida</i> .....	16
2.4.1.4.	<i>Capacidad buferante básica</i> .....	16
2.4.2.	<i>Análisis químico</i> .....	17
2.4.2.1.	<i>Determinación de humedad inicial</i> .....	17
2.4.2.2.	<i>Determinación de humedad higroscópica</i> .....	18
2.4.2.3.	<i>Determinación de ceniza</i> .....	19
2.4.2.4.	<i>Determinación de proteína Método de Kjeldahl</i> .....	20
2.4.2.5.	<i>Determinación de grasa Método de Goldfish</i> .....	21
2.4.2.6.	<i>Determinación de fibra Método de Labconco</i> .....	23
2.4.3.	<i>Análisis complementario</i> .....	24
2.4.3.1.	<i>Determinación de fibra detergente neutra Método de Ankom</i> .....	24
2.4.3.2.	<i>Determinación de la fibra detergente ácida Método de Ankom</i> .....	26
2.4.3.3.	<i>Determinación de lignina detergente ácida Método de Ankom</i> .....	27
2.4.4.	<i>Análisis de digestibilidad “in vivo”</i> .....	28
2.4.5.	<i>Análisis de digestibilidad “in vitro”</i> .....	29
2.4.5.1.	<i>Técnica fluido ruminal</i> .....	29
2.4.5.2.	<i>Técnica licor cecal</i> .....	30
2.4.5.3.	<i>Técnicas de enzimas (pepsina, pancreátina y viscozyme)</i> .....	31
2.4.6.	<i>Análisis estadístico</i> .....	33
	<b>CAPÍTULO III</b> .....	34
3.	<b>RESULTADOS Y DISCUSIONES</b> .....	34
3.1.	Análisis físico y químico de los pellet.....	34
3.2.	Análisis de paredes celulares.....	36
3.3.	Análisis de digestibilidad.....	37
3.4	Coeficiente de digestibilidad.....	38
	<b>CONCLUSIONES</b> .....	39
	<b>RECOMENDACIONES</b> .....	40
	<b>BIBLIOGRAFÍA</b>	
	<b>ANEXOS</b>	

## ÍNDICE DE ABREVIATURA

CAA	Capacidad de adsorción de agua
CBA	Capacidad buferante ácida
CBB	Capacidad buferante básica
DIVE	Digestibilidad in vitro enzimas
DIVFR	Digestibilidad in vitro fluido ruminal
DIVLC	Digestibilidad in vitro licor cecal
E.E	Extracto etéreo
F.C	Fibra cruda
F1	Pellets de alfalfa joven
F2	Pellets de alfalfa madura
FDA	Fibra detergente ácida
FDN	Fibra detergente neutra
g	Gramos
h	Hora
H	Humedad
H.I	Humedad inicial
L	Litro
LDA	Lignina detergente ácido
M	Molar
mg	Miligramos
mL	mililitros
M.S	Muestra seca
N	Normalidad
P.B	Proteína bruta
r.p.m	Revoluciones por minuto
S	Solubilidad
%	Porcentaje
°C	Grados Celsius

## ÍNDICE DE TABLAS

TABLA 1-3.	Análisis físico químico de los pellets.....	34
TABLA 2-3.	Análisis de paredes celulares.....	36
TABLA 3-3.	Porcentaje de digestibilidad.....	37
TABLA 4-3.	Coeficiente de digestibilidad de los pellets en la alimentación del cuy.	38

## ÍNDICE DE CUADROS

CUADRO 1-1.	Clasificación de los animales según su anatomía gastrointestinal....	9
CUADRO 2-1.	Diferencias de los tractos gastrointestinales.....	10

## ÍNDICE DE FOTOGRAFÍAS

FOTOGRAFÍA No. 1	Componentes para la elaboración del pellet.....	46
FOTOGRAFÍA No. 2	Pellet de alfalfa joven.....	46
FOTOGRAFÍA No. 3	Pellet de alfalfa madura.....	46
FOTOGRAFÍA No. 4	Solubilidad.....	46
FOTOGRAFÍA No. 5	Capacidad de absorción de agua.....	46
FOTOGRAFÍA No. 6	Capacidad buferante ácida.....	47
FOTOGRAFÍA No. 7	Capacidad buferante básica.....	47
FOTOGRAFÍA No. 8	Humedad.....	47
FOTOGRAFÍA No. 9	Ceniza.....	47
FOTOGRAFÍA No. 10	Proteína.....	47
FOTOGRAFÍA No. 11	Extracto etéreo.....	47
FOTOGRAFÍA No. 12	Fibra.....	48
FOTOGRAFÍA No. 13	Fibra detergente neutra Método de Ankom.....	48
FOTOGRAFÍA No. 14	Fibra detergente ácida Método de Ankom.....	48
FOTOGRAFÍA No. 15	Lignina detergente neutra Método de Ankom.....	49
FOTOGRAFÍA No. 16	Etapas de acostumbramiento.....	49
FOTOGRAFÍA No. 17	Recolección de heces.....	49
FOTOGRAFÍA No. 18	Pesar las heces y los residuos de la muestra prima.....	49
FOTOGRAFÍA No. 19	Bolsas de Dacrón.....	50
FOTOGRAFÍA No. 20	Vaca fistulada.....	50
FOTOGRAFÍA No. 21	Reactivo - Pepsina.....	50
FOTOGRAFÍA No. 22	Estufa de 65 °C.....	50
FOTOGRAFÍA No. 23	Ciego del cuy.....	51
FOTOGRAFÍA No. 24	Reactivo - Licor cecal - Saliva.....	51
FOTOGRAFÍA No. 25	Vasos de digestibilidad.....	51
FOTOGRAFÍA No. 26	Incubadora a 40 °C.....	51
FOTOGRAFÍA No. 27	Periodo de la primera incubación.....	52
FOTOGRAFÍA No. 28	Periodo de la segunda incubación.....	52
FOTOGRAFÍA No. 29	Periodo de la tercera incubación.....	52

## ÍNDICE DE ANEXOS

ANEXO A.	Fotografías de las materias primas.....	46
ANEXO B.	Fotografías del análisis físico.....	46
ANEXO C.	Fotografías del análisis químico.....	47
ANEXO D.	Fotografías del análisis complementario.....	48
ANEXO E.	Fotografías del análisis de digestibilidad “in vivo”.....	49
ANEXO F.	Fotografías del análisis de digestibilidad de fluido ruminal.....	50
ANEXO G.	Fotografías del análisis de digestibilidad de licor cecal.....	51
ANEXO H.	Fotografías del análisis de digestibilidad de enzimas.....	52

## INTRODUCCIÓN

Los animales, como todos los seres vivos, deben comer alimentos para mantener sus estructuras y realizar sus funciones, siendo de gran importancia conocer la nutrición de los animales porque nos ayuda a estudiar los procesos físicos y químicos que sufre un alimento durante su paso por el tracto digestivo. **(FLORES, Lina. 2010. p. 1)**

La calidad de un alimento destinado a consumo animal, se evalúa a través de su composición química, además se debe considerar los efectos de los procesos de digestión, absorción y metabolismo del animal. La evaluación de la digestibilidad es un parámetro importante de calidad del alimento, es la fracción del alimento consumido que no aparece en las heces y por tanto, fue absorbido en el tracto gastrointestinal. Mientras mayor sea el valor de la digestibilidad, mejor será el aprovechamiento de los nutrientes del alimento. **(TOBAL, C.F. 2012. p. 94)**

Se ha ido investigando y desarrollando métodos destinados a medir en forma rápida y precisa el valor nutritivo de los alimentos, para evaluar su uso potencial en animales de producción, por lo que se ha visto la necesidad de encontrar el método más adecuado para su análisis, ya que se requiere de información avanzada respecto al valor nutritivo de los alimentos ya que el valor nutricional comprende la digestibilidad, consumo de alimento y eficiencia energética. **(GARCÍA, Iván. p. 2)**

Considerando la producción actual de cuy según el III Censo Nacional Agropecuario, que para Ecuador existieron 5.067.049 millones, en la región sierra 4.804.614 millones y en la región costa es de 71.969, demostrando mayor producción en la región sierra y su gran potencial de comercialización a nivel nacional e internacional. **(INEC. 2012).**

Por su gran demanda se realiza la comparación de tres ensayos de digestibilidad in vitro de alfalfa con un ensayo in vivo en cuyes, utilizando dos grados de madurez del alimento. Además la FAO indica que el aparato digestivo del cuy permite la utilización de forrajes de buena calidad como es la alfalfa. **(FAO. <http://www.fao.org/docrep/W6562S/w6562s04.htm>)**

La alfalfa tiene una elevada producción de materia seca, proteína, digestibilidad y un gran consumo animal. **(JUAN, Néstor., et al. 1995. p. 1)**

El presente tiene por objetivo comparar tres pruebas de digestibilidad in vitro utilizando: fluido ruminal, enzimas y licor cecal del cuy con el ensayo in vivo, para determinar el óptimo tratamiento que se asemeje al ensayo in vivo.



# CAPÍTULO I

## 1. MARCO TEÓRICO

### 1.1 Alfalfa (*Medicago sativa*)

La alfalfa es uno de las plantas más valiosas y nutritivas, que contribuye un gran valor a la alimentación en el ganado, principalmente a los animales que producen leche. (CHAVEZ, Mónica. 2010. p. 5)

Pozo, M (1983), indica que sus tallos y principalmente sus hojas constituyen un succulento forraje, considerando a la alfalfa la especie preferida para producir forrajes, por su alta calidad y elevada producción, siendo la alfalfa el principal alimentos para los cuyes. (AGUIRRE, Jannet. 2008. p. 17)

El contenido de nutrientes presentes en el alimento es uno de los aspecto más sobresalientes de su calidad, de esta forma nos permitirá tener una mejor apreciación de valoración nutricional, al ser consumido por el animal, se unirá en el organismo para cumplir diferentes funciones vitales, como expresa sus datos (SAVÓN, Lourdes. 2002. p. 95-97) y la (INEN 1645. 2012. p. 2)

#### 1.1.1 Generalidades

El nombre científico de la alfalfa es *Medicago sativa*, es una planta herbácea correspondiente a la familia de las leguminosas. La alfalfa se le conoce de varias maneras de acuerdo a cada país, en España se le conoce como *Mielga*, en Francia como *Lucerne*, en Inglaterra como *Alfalfa lucerne*. Benítez, A. en 1980, dice que *Medicago sativa* proviene de Asia Occidental y del Cáucaso, luego vine a América a inicios del siglo XVI, después empieza a cultivarse en América Latina en los años 1521 a 1530, cultivando desde hace aproximadamente 500 años. (CARPIO, José. 2011. p. 31-32)

#### 1.1.2 Composición química

El valor nutritivo tiene factores intrínsecos como la composición química, digestibilidad, factores ambientales, factores propios del animal y la interacción entre las pasturas, el animal y el ambiente, como también nutrientes orgánicos y minerales. (PIRELA, Manuel. 2005. p. 176)

Los análisis nos permitirán entender mejor los procesos bioquímicos que impactan sobre el animal. (COLOMBATTO, Darío. 2000. p. 1)

#### **1.1.2.1** *Muestra seca*

La materia seca no es considerada un análisis químico pero es esencial, porque un error en este análisis puede transferir al resto de los componentes químicos, los cuales deben ser transformados en base materia seca para poder comparar con otros alimentos. Nos dice Cherney, 2000 citado por (COLOMBATTO, Darío. 2000. p. 1) que para los forrajes frescos o heno, debe ser secado en horno a 65° C por 48 h, para obtener una correcta determinación del contenido de materia seca

#### **1.1.2.2** *Proteína cruda*

La proteína en forrajes tropicales es bajo, tiene un 7% (base seca) disminuye el consumo de forrajes, pero para tener un buen valor de porcentaje en el análisis de proteína debe tener condiciones adecuadas de humedad y manejo apropiado (fertilización, estado de madurez, presión de pastoreo). De ahí que la valoración cuantitativa del contenido proteico del forraje sea la base para conocer si satisface los requerimientos del animal. Este puede dividirse en dos componentes: necesidades de amoníaco para el crecimiento de las bacterias en el interior del rumen y de aminoácidos que serán absorbidos en el intestino delgado. Una característica deseable en los forrajes y otros alimentos es la de proveer una fuente adicional de proteína (proteína sobrepasante) para ser digerida y absorbida en el intestino delgado y que complemente de forma satisfactoria el suministro de aminoácidos procedentes de la proteína microbiana. (PIRELA, Manuel. 2005. p. 177)

El nitrógeno es un componente fundamental de la dieta de los animales, sobre todo para su crecimiento, lactación y gestación, porque es el elemento básico para la síntesis de las proteínas. La relación entre el peso total de una proteína y el de su contenido en nitrógeno es muy constante, de 6,25: las proteínas contienen un 16% de nitrógeno. (AYANZ, Alfonso. 2006. p. 4-5)

#### **1.1.2.3** *Extracto etéreo*

Son compuestos orgánicos insolubles en agua, que pueden ser extraídos por solventes como el éter, benceno y cloroformo; este compuesto da energía al animal pero es muy distinto a las grasas verdaderas. El extracto etéreo consiste en los constituyentes considerados como nutrientes y son

los glicéridos de ácidos grasos, ácidos grasos libres, colesterol y lecitinas. (**CRAMPTON, E., HARRIS, L. 1979. p. 756**)

#### **1.1.2.4** *Carbohidratos*

Es el principal elemento de los forrajes, son responsables de las 3/4 partes del peso seco de las plantas, su primordial constituye es la lignina, es un compuesto complejo, heterogéneo y no digerible por los microorganismos ruminales, ni por las enzimas intestinales, se halla introducido en la pared celular de los tejidos vegetales, su contenido aumenta con la madurez, siendo responsable de la digestión incompleta de la celulosa y la hemicelulosa y es el principal factor limitante de la digestibilidad de los forrajes. (**PIRELA, Manuel. 2005. p. 177**)

El principal objetivo de los carbohidratos es la conversión eficiente en proteínas y lípidos, esto se logra a través de la población microbiana del rumen que es capaz de metabolizarse, con beneficios para su huésped eso nos dice Gaggiotti (2008) citado por (**GUERRERO, Pedro. 2011. p. 5**)

#### **1.1.2.5** *Minerales*

Los minerales varían porque depende del tipo de planta y propiedades del suelo teniendo una relación suelo-planta-animal. En algunos casos se han detectado escaseces de minerales en rumiantes que consumen forrajes en niveles supuestamente adecuados, esto expresa que su digestión o absorción ha sido limitada por condiciones de la planta, animal o del manejo al cual son sometidos. (**PIRELA, Manuel. 2005. p. 177**)

### **1.2** *Digestibilidad*

Es el conocimiento del valor nutritivo de los alimentos para tener una buena nutrición animal, considerando los efectos de los procesos de digestión, absorción y metabolismo. La digestibilidad es la proporción de nutrientes presentes en una ración que pueden ser absorbidos por el aparato digestivo. (**LACHMANN, Mariela., ARAUJO, O. 2001. p. 1**)

La digestibilidad sirve como una medida para determinar la calidad de la dieta y de las materias primas utilizadas en ella, la disponibilidad de los nutrientes que las constituyen, la importancia que tienen estos en la salud de los animales, su desempeño y las características de las heces, además sirve como soporte para el cálculo de los requerimientos nutricionales. (**OSORIO, Esteban. et al. 2012. p. 88**)

El objetivo principal del proceso digestivo es proporcionar nutrimentos al animal, y está compuesto por el proceso de ingestión de alimento, la secreción de ácido clorhídrico y de enzimas en el tracto gastrointestinal, la hidrólisis de macromoléculas, la absorción de nutrientes y la excreción de productos de desecho. (PARRA, Jaime., GOMÉZ, Andrés. 2009. p. 1-3)

### **1.3 Tipos de digestibilidad**

#### **1.3.1 Método "in vivo"**

La digestibilidad o energía digestible se establece mediante ensayos de balance nutritivo, utilizando para su estudio animales vivos, este método es el más confiable, ya que involucra directamente factores tanto del alimento como del animal. Este método mide de la ingestión de una determinada ración de composición conocida y la colecta total de la deposición fecal correspondiente al alimento consumido. (LACHMANN, Mariela., ARAUJO, O. 2001. p. 2-3)

Este método da a conocer el grado de aprovechamiento de las diversas especies forrajeras, que se utiliza en la alimentación animal, determinando el grado de aprovechamiento a través del tracto digestivo, con el fin de diseñar dietas acordes a las necesidades de la especie y que permitan alcanzar los máximos niveles de rendimiento productivo. (NARVÁEZ, Juan., DELGADO, Julie. 2012. p. 17)

En este método depende de la especie, del tipo de animal (de la misma raza, sexo y edad), para este método se recomienda utilizar mamíferos machos que hembras, porque es más fácil recoger la orina y las heces por separado.

Se utilizan jaulas para el método in vivo, que son llamadas jaulas de digestibilidad o metabólicas, tienen como objetivo disminuir el movimiento del animal, la jaula debe tener piso ranurado, para evitar el exceso de humedad y poder recoger las heces fecales, también puede ser recolectada con la ayuda de sacos atados al animal llamados bolsas colectoras, en su interior tienen bolsas de polietileno, las heces son retiradas para ser pesadas, rotuladas y conservadas a – 20 °C hasta su respectivo análisis en el laboratorio. (TOBAL, C.F. 2012. p. 97)

A todo los animales para el método de digestibilidad “in vivo” se debe dar un periodo de tiempo de adaptación a los microorganismos del rumen con la cantidad de la muestra que queremos analizar, hasta obtener un nivel estable. A cada animal se proporciona la misma cantidad de

alimento y de la misma forma se pesa la parte rechazada por el animal que son las heces. (TOBAL, C.F. 2012. p. 97)

Mac Donald, en 1986 señala que el período de recolección de heces debe durar de 3 a 14 días, mientras más largo sea el período, más exactos son los resultados obtenidos. Cañas en 1995 considera que se debe realizar como mínimo 3 repeticiones del ensayo, para obtener mejores resultados. Los animales antes de empezar su ensayo se debe pesar al inicio y al final de la prueba, desparasitarse antes de iniciar el período de acostumbamiento, controlar que se encuentren en buen estado de salud y durante el período de colección de heces no variar el régimen alimenticio previamente escogido. (TOBAL, C.F. 2012. p. 98)

Esto nos permite tener el control del alimento suministrado, consumido y rechazado que permite determinar coeficientes de digestibilidad. (NARVÁEZ, Juan., DELGADO, Julie. 2012. p. 19)

## CALCULO

$$\text{Dig. aparente de M. S} = \frac{\text{cant. de M. S. ingerida} - \text{cant. de M. S. excretado}}{\text{cant. de M. S. ingerido}} \times 100$$

### 1.3.1.1 *Ventajas y desventajas*

La determinación de la digestibilidad “*in vivo*”, es el método más exacto para su evaluación, pero su gran desventaja es que su procedimiento es costoso por su infraestructura, se utiliza grandes cantidades de alimento y se demora mucho más tiempo que los otros métodos de digestibilidad. (CARRO, María. et al 1994. p. 57)

En el método presenta ciertas dificultades respecto a la práctica, como es la recolección total de las heces e impedir que se mezclen con la orina y evitar que se produzcan trastornos digestivos. (TOBAL, C.F. 2012. p. 100)

### 1.3.2 *Método “in vitro”*

Estos métodos intentan simular en el laboratorio el proceso digestivo que tiene lugar en el animal. El precursor de este método de fermentación fue Tilley y Terry (1963), consistente en dos

incubaciones sucesivas, la primera en fluido ruminal y la segunda en pepsina ácida, incubada a 48 horas cada una. Existen otros métodos “*in vitro*”, el más utilizado es el denominado “test de Hohenheim” o método de la producción de gas, planteado por Menke y sus colaboradores (1979). El procedimiento consiste en la determinación de la cantidad de gas producido tras incubar una muestra de alimento en líquido ruminal y numerosos autores han encontrado altas correlaciones entre los valores obtenidos y la digestibilidad (Andrighetto et al., 1992; Kha- zaal et al., 1993) citado por **(CARRO, María. et al 1994. p. 58)**

El otro método se llama la técnica de “*in sacco*” consiste en incubar una muestra de forraje, colocada en el interior de una bolsa de nylon o indigestible, en el rumen de un animal canulado o fistulado, con el fin de determinar la desaparición de los constituyentes de los forrajes en tiempos de incubación variables, este método tiene como ventaja ante los demás métodos que la cantidad de un alimento será degradada en el rumen en un tiempo determinado. **(CARRO, María. et al 1994. p. 60)**

Las técnicas enzimáticas consisten en determinar la solubilidad de los forrajes en disoluciones de celulasas u otros enzimas, se puede usar pepsina ácida o un detergente neutro. Estas técnicas tiene una digestibilidad inferior al método “*in vivo*” de Tilley y Terry (1963). **(CARRO, María. et al 1994. p. 60-61)**

Las técnicas de Tilley y Terry en el año 1963, con el tiempo se ha ido modificando a este método, con la propuesta por Schimid et al. (1975) de incorporar "buffer" como fuente de nitrógeno. Otra modificación al método, es la de Van Soest et al., (1966) que sustituye la pepsina de la segunda etapa por solución detergente neutro para determinar FDA, es decir, solubiliza la pared celular bacteriana y los productos endógenos, además de la proteína. **(TOBAL, C.F. 2012. p. 108-109)**

La validez de los resultados por técnicas *in vitro*, que emplean licor ruminal en la evaluación de forraje, son más difíciles de establecer que los métodos químicos. Sin embargo este método es un método biológico, que considera la estructura física como la composición química de la muestra de forraje, puesto que ésta es digerida por microorganismos del rumen. Para la digestibilidad del método “*in vitro*” se debe tener animales fistulados en el rumen, que sean de la misma especie, porque si son de diferente especie, en la utilización del jugo ruminal se van a obtener distintos resultados, en este método es subvalorado la digestibilidad en rangos inferiores a 65%, por la falta de tiempo de fermentación con licor ruminal, especialmente en forrajes de menor calidad. **(TOBAL, C.F. 2012. p. 109-110)**

En la investigación de la “Conservación del forraje de alfalfa”, la calidad del forraje fue baja, con valores de fibra detergente neutra (FDN) entre el 63 y el 74 % y de digestibilidad "in vitro" de la MS (DIVMS) entre un 45 y un 55 %. Pero la alfalfa en el Trenque Lauquen (Buenos Aires), son sus valores máximos de 71 % y mínimos de 52 % para digestibilidad. (JUAN, Néstor., et al. 1995. p. 2-3)

#### **1.3.2.1** *Ventajas y desventajas*

El método in vitro, su gran ventaja es que permite el análisis de un gran número de muestras en menos tiempo, se utiliza pequeñas cantidades de muestra, tiene un costo menor en comparación con el método in vivo, el método es muy reproducible y más fácil de manejar, entrega valores semejantes a los del métodos in vivo. Su gran inconveniente es de poseer y mantener animales fistulados en el rumen y que sean de la misma especie. (ALVAREZ, Diana. 2009. p. 19)

### **1.4 Digestibilidad de la alfalfa en cuyes**

Para la Digestibilidad se debe conocer la anatomía y fisiología del cuy y los microorganismos que se encuentra en el tracto digestivo del animal.

#### **1.4.1** *Anatomía y fisiología digestiva del cuy*

La fisiología digestiva estudia los mecanismos que se encargan de trasladar nutrientes orgánicos e inorgánicos del medio ambiente al medio interno, para después ser transportados por el sistema circulatorio a cada una de las células del organismo. Es un procedimiento que comprende la ingestión, digestión y absorción de nutrientes y el deslizamiento de estos a lo largo del tracto digestivo. (FAO. <http://www.fao.org/docrep/v5290s/v5290s21.htm>) (CHAUCA, Lilia. 1993. p. 46)

El cuy es un mamífero roedor, conocido como cobayo o curí, originario de la zona andina de Bolivia, Colombia, Ecuador y Perú.

El cuy es una especie herbívoro monogástrico que se alimenta especialmente de forraje verde, su anatomía gastrointestinal está clasificado como un fermentador postgástrico cecal como el conejo y la rata (Van Soest, citado por Gómez y Vergara, 1995), como se muestra en el Cuadro 1. Un poligástrico tiene procesos de fermentación mixta y capacidad degradadora de celulosa, que a un monogástrico. (GARCÍA, Madeline. 2012. p. 23)

**CUADRO N° 1.** Clasificación de los animales según su anatomía gastrointestinal

<b>Clase</b>	<b>Especie</b>	<b>Habito alimentario</b>
<b>1. Fermentadores pre-gástricos</b>		
I. Rumiantes	Vacuno, ovino Antílope, camello	Herbívoro de pasto Herbívoro selectivo
II. No rumiantes	Hámster, ratón de campo Canguro, hipopótamo	Herbívoro selectivo Herbívoro de pasto y Selectivo
<b>2. Fermentadores post-gástricos</b>		
I. Cecales	Capibara Conejo Cuy Rata	Herbívoro de pasto Herbívoro selectivo Herbívoro Omnívoro
II. Colónicos		
o Saculados	Caballo, cebra	Herbívoro de pasto
o No saculados	Perro, gato	Carnívoro

**Fuente: Van Soest 1983, citado por Gómez y Vergara, 1995**

El cuy tiene un estómago donde inicia su digestión enzimática y un ciego donde se elabora la fermentación bacteriana; su mayor o menor actividad depende de la composición de la ración.

Es un fermentador post-gástrico porque posee microorganismos a nivel del ciego, el desplazamiento de la ingesta es rápida a través del estómago e intestino delgado, no se demora más de dos horas en llegar la mayor parte de la ingesta al ciego (Reid, 1948, citado por Gómez y Vergara, 1993). Siendo en el ciego e intestino grueso donde se ejecuta la absorción de los ácidos grasos de cadenas cortas. La absorción de los otros nutrientes se realiza en el estómago e intestino delgado incluyendo los ácidos grasos de cadenas largas. (Hagan y Robison, 1953, citado por Gómez y Vergara, 1993). (FAO. <http://www.fao.org/docrep/W6562S/w6562s04.htm>)

#### **1.4.2 Microorganismos de tracto digestivo del cuy**

Los mamíferos se identifican por poseer una microflora bacteriana intestinal compleja, constituida principalmente por bacterias anaeróbicas Gram (+) del tipo *Lactobacillus*, y algunas bacterias anaerobias Gram (-) como *Bacteroides* spp. (GARCÍA, Madeline. 2012. p. 25)

En el ciego se han encontrado bacterias celulolíticas, pectinolíticas, xilanolíticas, ureolíticas, proteolíticas y amilolíticas. La actividad metabólica de la flora está relacionada a la producción de ácidos grasos volátiles (AGV) y amonio (NH<sub>3</sub>). (GARCÍA, Madeline. 2012. p. 26)



**CUADRO N° 2.** Diferencias de los tractos gastrointestinales.

<b>RUMIANTES (RUMEN)</b>	<b>MONOGASTRICOS (INTESTINO GRUESO)</b>
Bacterias	Bacterias
Protozoos	-----
Hongos	-----
Proteína microbial (Síntesis y degradación)	Proteína microbial (Síntesis y degradación)
Producción y absorción de AGV	Producción y absorción de AGV

FUENTE: Álvarez, D. 2009

## CAPITULO II

### 2 PARTE EXPERIMENTAL

#### 2.1 Lugar de pruebas de ensayo

La presente investigación se desarrolló en el Laboratorio de Nutrición Animal y Bromatología en la Facultad de Ciencias Pecuarias de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo ubicada en la Panamericana Sur, km 1.5 de la ciudad de Riobamba, Provincia de Chimborazo.

#### 2.2 Materia prima

##### 2.2.1 Alfalfa (*Medicago sativa*)

La alfalfa (*Medicago sativa*) se recolecto en el cantón Guano, parroquia San Andrés en el sector Juan Pablo, el primer corte de la alfalfa a los 30 días considerados como alfalfa joven y el segundo corte a los 45 días considerados como alfalfa madura. Se realizó el secado de los dos tipos de alfalfa mediante la utilización de una estufa a una temperatura constante de 65 °C por 48 horas, luego tubo de proceso de enfriamiento para la posterior molienda para un análisis físico y químico.

##### 2.2.2 Pellet

Los pellets se elaboraron con 198 g de la molienda de la alfalfa, 1 g de sal mineral, 1g de sal y 200 mg de vitamina C por cada 10 mL de agua destilada para la alfalfa joven y 200 mg de vitamina C por cada 25 mL de agua destilada para la alfalfa madura, realizando el mismo procedimiento por tantas veces hasta terminar los 10 Kg de la alfalfa molida, para los dos tipos de alfalfa.

#### 2.3 Materiales, equipos y reactivos

##### 2.3.1 Materiales

- 12 jaulas metabólicas para cuyes
- 12 cuyes machos
- Alfalfa joven y madura
- Bolsas de dragón para digestibilidad

- Cadenas de acero
- Hilo de nylon
- Cuba de vidrio capacidad para 10 litros
- Coolers con hielo
- Funda de papel
- Fundas ziploc
- Crisoles de gooch
- Crisoles de porcelana
- Tapas para crisoles
- Desecador
- Pinza universal
- Espátula
- Beakers para la digestión de 600 ml de capacidad
- Beakers para el solvente orgánico
- Balones Kjeldahl de 800 mL
- Probetas graduadas
- Pissetas
- Papel de aluminio
- Pipeta volumétrica de 1 mL, 5 mL, 10 mL y 20 mL
- Pera de succión
- Dedales de extracción
- Porta dedales
- Bureta
- Pinza de bureta
- Erlenmeyer de 500 ml
- Soporte universal
- Barra de agitación
- Papel bond
- Balde de plástico
- Bolsitas filtrantes ANKOM
- Vasos de precipitación 250 mL, 500 mL y 1000 mL
- Papel filtro
- Vidrio reloj
- Tubos de centrifuga

### **2.3.2 Equipos**

- Equipo de LABCONCO para determinar fibra cruda
- Equipo de Goldfish para la extracción de grasa
- Equipo de bomba al vacío
- Equipo de digestión y destilación Macro Kjeldahl
- Estufa de 105°C
- Equipo de digestión ANKOM
- Mufla a 550°C
- Balanza analítica
- Molino
- Reverbero
- Agitador magnético
- Sellador de funda
- Incubadora
- pH-metro
- Centrifuga

### **2.3.3 Reactivos**

- H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> a 0,13 M
- NaOH AL 22%
- Alcohol-n-amílico
- Lana de vidrio
- Agua destilada
- Acetona
- Fenolftaleína (indicador)
- Hexano
- Sodio sulfato de anhídrido
- Algodón desengrasado
- Ácido sulfúrico concentrado
- Sulfato de sodio
- Sulfato cúprico
- Solución de hidróxido de sodio al 50%
- Solución indicadora para proteína
- Ácido bórico al 2,5%

- Ácido clorhídrico al 0.1 N
- Perlas se zinc
- Pepsina 700 FIP
- Solución de detergente neutro por cada litro
  - o 30 g de lauril sulfato de sodio
  - o 18,61 g de EDTA sodio deshidratado
  - o 6,51 g de tetraborato de sodio
  - o 4,56 g de fosfato di básico de sodio anhidro
  - o 10 mL de trietilenglicol
- Alfa amilasa
- Sulfito de sodio anhidro
- Solución de detergente acido
  - o 20 g bromuro de cetil trimetilamonio (CTAB)
  - o 27,7 mL ácido sulfúrico concentrado
- Ácido sulfúrico al 72 %
- Saliva DIV para cada litro
  - o 9,8 g NaHCO<sub>3</sub>
  - o 3,7 g Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>
  - o 0,57 g KCl
  - o 0,47 g NaCl
  - o 0,12 g MgSO<sub>4</sub>
  - o 0,04 g CaCl<sub>2</sub>

## 2.4 Técnicas

### 2.4.1 *Análisis físico*

#### 2.4.1.1 *Determinación de la solubilidad*

##### **Principio**

La solubilidad es la capacidad que tiene una sustancia de disolverse en un determinado medio. (SAVÓN, Lourdes., GUTIÉRREZ, O. 1999. p. 13)

##### **Procedimiento**

El análisis se realizó por duplicado, se determinó para las muestras de alfalfa joven y madura.

1. Pesar 2 g de muestra en un recipiente. (a)

2. Añadir 60 mL de agua destilada.
3. Reposar durante 1 h a temperatura ambiente.
4. Filtrar y colocar en la estufa a 60°C durante 12 h.
5. Pesar el residuo seco. (b)

### **Cálculo**

$$\text{Solubilidad \%} = \frac{(a - b)}{a} \times 100$$

Donde:

a = peso de la muestra

b = peso de la muestra seca

#### **2.4.1.2** *Capacidad de absorción de agua (método de centrifugación)*

### **Principio**

La capacidad de absorción de agua, es la capacidad que tiene un material de absorber un líquido y la habilidad que tiene la fibra para hincharse. (SAVÓN, Lourdes., GUTIÉRREZ, O. 1999. p. 7)

### **Procedimiento**

El análisis se realizó por duplicado, se determinó para las muestras de alfalfa joven y madura.

1. Pesar 1 g de muestra en el tubo de centrifuga tarado. (a)
2. Anadir 20 mL de agua destilada en el tubo.
3. Dejar reposar por 16 h a temperatura ambiente.
4. Centrifugar a 3000 r.p.m por 30 minutos.
5. Descartar sobrenadante 1 h.
6. Pesar la muestra húmeda. (b)
7. Secar en la estufa de 105°C por 24 h.
8. Pesar la muestra seca (c)

### **Cálculo**

$$\% \text{ CAA} = \frac{(b - c)}{a} \times 100$$

Donde:

CAA = Capacidad de absorción de agua

a = peso de la muestra + tubo de centrifuga tarado

b = peso de la muestra húmeda + tubo de centrifuga tarado

c = peso de la muestra seca + tubo de centrifuga tarado

### 2.4.1.3 *Capacidad buferante ácida*

#### **Principio**

La capacidad buferante ácida se basa en que un sólido en solución pase de un medio básico a un medio ácido. (SAVÓN, Lourdes., GUTIÉRREZ, O. 1999. p. 12)

#### **Procedimiento**

El análisis se realizó por duplicado, se determinó para las muestras de alfalfa joven y madura.

1. Pesar 0,5 g de muestra en un recipiente. (d)
2. Colocar 25 mL de agua destilada y disolver.
3. Ajustar a pH 8 con NaOH.
4. Registrar la lectura del pH del NaOH. (b)
5. Ajustar la misma muestra a pH 2 con HCl 0,1 N
6. Registrar los mL gastados de HCl. (a)
7. Registrar la lectura del pH del HCl. (c)

#### **Cálculo**

$$CBA = \frac{(a \times 0,1 N)}{(b - c) \times d}$$

Donde:

CBA = Capacidad buferante ácida

a = mL gastados de HCl

b = pH inicial del NaOH

c = pH final del HCl

d = peso de la muestra

### 2.4.1.4 *Capacidad buferante básica*

#### **Principio**

La capacidad buferante básica se basa en que un sólido en solución pase de un medio ácido a un medio básico. (SAVÓN, Lourdes., GUTIÉRREZ, O. 1999. p. 12)

## Procedimiento

El análisis se realizó por duplicado, se determinó para las muestras de alfalfa joven y madura.

1. Pesar 0,5 g de muestra en un recipiente.
2. Colocar 25 mL de agua destilada y disolver.
3. Ajustar a pH 2 con HCl 0,1 N.
4. Registrar los mL gastados de HCl. (a)
5. Registrar la lectura del pH del HCl.
6. Ajustar la misma muestra a pH 8 con NaOH.
7. Registrar la lectura del pH del NaOH.

## Cálculo

$$\text{CBB} = \frac{(a \times 0,1 \text{ N})}{(c - b) \times d}$$

Donde:

CBB = Capacidad buferante básica

a = mL gastados de HCl

b = pH inicial del HCl

c = pH final del NaOH

d = peso de la muestra

### 2.4.2 *Análisis químico*

#### 2.4.2.1 *Determinación de humedad inicial*

## Principio

La humedad inicial se considera que la pérdida de peso es agua, este método se basa en la evaporación del agua mediante calor, el secado de la muestra se deberá realizar a 60°C durante 48 horas, esta técnica elimina el 88% de humedad. (A.O.A.C. 1984) (FAO. 1986)

## Procedimiento

El análisis se realizó por triplicado, se determinó para la materia prima y heces del cuy de la alfalfa joven y madura.

1. Pesar la funda de papel. (P1)
2. Pesar de 100 g a 200 g muestra en la funda de papel. (P2)
3. Secar la muestra en la estufa de 60°C por 48 h.
4. Sacar la muestra de la estufa y dejar enfriar en un lugar limpio por media hora o más.



5. Pesar la muestra seca. (P3)
6. Para su posterior análisis la muestra tiene que ser molida por un tamiz de 1mm.

### **Cálculo**

$$\% \text{ H.I} = \frac{(P3 - P1)}{(P2 - P1)} \times 100$$

Donde:

H.I = Humedad inicial

P1 = Peso de la funda de papel

P2 = Peso de la muestra + peso de la funda de papel

P3 = Peso de la muestra seca

### **2.4.2.2 Determinación de humedad higroscópica**

#### **Principio**

La humedad higroscópica se basa en la volatilización del agua a causa del calor, hasta que se haya eliminado 100 % de agua aplicando para ello una temperatura de 105°C. (A.O.A.C. 1984) (FAO. 1986)

#### **Procedimiento**

El análisis se realizó por triplicado, se determinó para la materia prima, pellets y heces del cuy de la alfalfa joven y madura.

1. Colocar el crisol previamente limpias en la estufa de 105°C por tres horas como mínimo, hasta tener un peso constante.
2. Enfriar el crisol en el desecador como mínimo media hora.
3. Pesar y registrar el peso del crisol tarado. (P1)
4. Pesar 1 g de muestra en el crisol de porcelana. (P2)
5. Colocar el crisol con la muestra en la estufa de 105 °C por 12 h.
6. Enfriar el crisol en el desecador hasta temperatura ambiente.
7. Pesar la muestra seca. (P3)

### **Cálculo**

$$\% \text{ M.S} = \frac{(P1 + P3) - P1}{(P1 + P2) - P1} \times 100$$

Donde:

M.S = Materia seca

P1 = Peso del crisol tarado

P2 = Peso de la muestra fresca

P3 = Peso de la muestra seca

$$\% \text{ Humedad} = 100 - \% \text{ M.S}$$

### 2.4.2.3 Determinación de ceniza

#### Principio

Se lleva a cabo por medio de la incineración seca, consiste en quemar la sustancia orgánica de la muestra en la mufla a una temperatura de 550°C, con esto la sustancia orgánica se combustiona y se forma residuos hasta obtener una ceniza color gris o gris claro, todo este material inorgánico que no se quema se denomina ceniza. (A.O.A.C. 1984) (FAO. 1986)

#### Procedimiento

El análisis se realizó por triplicado, se determinó para la materia prima, pellets y heces del cuy de la alfalfa joven y madura.

1. Colocar el crisol en la estufa de 105°C por tres horas como mínimo, hasta tener un peso constante.
2. Enfriar el crisol en el desecador como mínimo media hora.
3. Pesar y registrar el peso del crisol tarado. (P1)
4. Pesar de 1 a 5 g de muestra en el crisol tarado. (P2)
5. Pre-calcinar la muestra en la plancha pre-calcinadora hasta que no haya presencia de humo.
6. Trasladar los crisoles con la muestra a la mufla de 550 °C por un tiempo de 4 a 5 h.
7. Sacar los crisoles de la mufla y colocar en el desecador por hora hasta su enfriamiento.
8. Pesar el crisol con la ceniza. (P3)

#### Cálculo

$$\% \text{ C} = \frac{(P3 - P1)}{(P2 - P1)} \times 100$$

Donde:

C= Ceniza

P1 = Peso del crisol tarado

P2 = Peso del crisol + peso de la muestra fresca

P3 = Peso del crisol con ceniza

$$\% \text{ Ceniza en base seca} = \frac{100 \times \% \text{ de Ceniza}}{\% \text{ de Materia seca}}$$

### **Materia orgánica**

$$\% \text{ Materia orgánica} = 100 - \% \text{ C}$$

#### **2.4.2.4 Determinación de proteína Método de Kjeldahl**

##### **Principio**

Este método se basa en la destrucción de la materia orgánica con ácido sulfúrico concentrado y calor, los hidratos de carbono y las grasas se destruyen hasta formar anhídrido carbónico y agua. La proteína se descompone con el ácido formando sulfato de amonio que en exceso de hidróxido de sodio libera amoníaco, el que se destila recibiendo en ácido bórico formándose borato de amonio el que se valora con ácido clorhídrico 0,1 N en presencia de fenolftaleína como indicador. (A.O.A.C. 1984) (FAO. 1986)

##### **Procedimiento**

El análisis se realizó por duplicado, se determinó para la materia prima, pellets y heces del cuy de la alfalfa joven y madura.

- Triturar, homogenizar y mezclar bien la muestra.

##### **Etapa de digestión**

1. Pesar 1 g de muestra en el papel bond. (PM)
2. Sumergir la muestra con el papel en los balones de kjeldahl de 800 mL.
3. Añadir en el balón 1 g de sulfato de cobre y 9 g de sulfato de sodio.
4. Agregar 25 mL de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> concentrado en el balón.
5. Colocar el balón en el digestor del equipo de kjeldahl.
6. Dejar que se digiera la muestra hasta que tome un color verde esmeralda, este proceso se consigue aproximadamente 2 a 3 horas.

##### **Etapa de destilación**

1. Colocar en los matraces Erlenmeyer de 500 mL, 100 mL de H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub> al 2.5 % y 3 gotas de fenolftaleína como indicador.
2. Una vez que ya esté la digestión de la muestra con el H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> sacar con cuidado los balones de kjeldahl de los digestores y dejar enfriar. Mientras se realiza el enfriamiento de las muestras digeridas proceder hacer lo siguiente:
  - a. Trasladar los matraces Erlenmeyer con el H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub> al 2.5 % al equipo de destilación quedando en contacto los tubos de vidrio del equipo con el ácido bórico.
  - b. Abrir la llave de agua del equipo de kjeldahl.

3. Una vez enfriados los balones kjeldahl con la muestra digerida, añadir al balón 200 mL de agua destilada, evitando que se produzca una reacción exotérmica, agregar al balón 3 pepitas de zinc granulado.
4. A esta misma solución añadir 100 mL de NaOH al 50 %.
5. Colocar inmediatamente el balón en el tapón de hule del equipo de destilación de kjeldahl, agitar el balón para la homogenización de las sustancias producto de la reacción.
6. Prender los reverberos del equipo de destilación, recoger en el matraz erlenmeyer con H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub> al 2.5 % 250 a 300 mL del destilado.
7. Sacar el matraz para su respectiva titulación.

#### **Etapa de la titulación**

1. Armar el equipo de titulación.
2. Poner en la bureta ácido clorhídrico 0.1 N
3. Realizar la titulación hasta el aparecimiento de un color rosa pálido.
4. Registrar la cantidad de HCl 0,1 N gastados en la titulación.

#### **Cálculo**

$$\% \text{ P. B} = \frac{\text{HCl 0.1 N estandarizado} \times 0.014 \times 6.25 \times \text{mL HCl 0.1 N gastados}}{\text{PM}} \times 100$$

Donde:

P.B = Proteína bruta

PM= Peso de la muestra

$$\frac{14.01}{1000} = 0.014 \text{ (constante)}$$

$$\frac{100}{16} = 6.25 \text{ (constante)}$$

$$\% \text{ Proteína Bruta en base seca} = \frac{100 \times \% \text{ de Proteína Bruta}}{\% \text{ de Materia seca}}$$

#### **2.4.2.5 Determinación de grasa Método de Goldfish**

##### **Principio**

El hexano se evapora y se condensa al pasar a través de la muestra, extrae materiales solubles en el solvente orgánico. (A.O.A.C. 1984) (FAO. 1986)

## Procedimiento

El análisis se realizó por duplicado, se determinó para la materia prima, pellets y heces del cuy de la alfalfa joven y madura.

1. Colocar el beaker previamente limpios en la estufa de 105°C por tres horas como mínimo, hasta tener un peso constante.
2. Enfriar el beaker en el desecador por media hora hasta su enfriamiento.
3. Pesar y registrar el peso del beaker tarado. (P1)
4. Pesar 1 g de muestra en papel aluminio. (P2)
5. Colocar la muestra en el dedal.
6. Poner poca cantidad de Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> en el dedal.
7. Meter un tapón de algodón desengrasado en la boca del dedal.
8. Colocar el dedal dentro de la porta dedal y trasladarlos a los ganchos metálicos del equipo de goldfish.
9. Poner en los beaker 40 mL de hexano y colocarlos en el anillo metálico del equipo de goldfish.
10. Abrir las llaves de agua del refrigerante del equipo.
11. Prender el equipo y ajustar el calor para rendir de 4 a 6 gotas por segundo.
12. Extraer el extracto etéreo por 4 horas evitando que el hexano se evapore.
13. Apagar el equipo de goldfish.
14. Sacar los beaker con el E.E del equipo y colocarlos en la estufa de 105 °C por media hora.
15. Enfriar el beaker en el desecador por media hora hasta su enfriamiento.
16. Pesar y registrar el peso del beaker con el E.E. (P3)

## Cálculo

$$\% \text{ E. E} = \frac{(P3 - P1)}{(P2)} \times 100$$

Donde:

E.E = Extracto etéreo

P1 = Peso del beaker tarado

P2 = Peso de la muestra

P3 = Peso del beaker con E.E

$$\% \text{ E. E en base seca} = \frac{100 \times \% \text{ E. E}}{\% \text{ de Materia seca}}$$

#### **2.4.2.6 Determinación de fibra Método de Labconco**

##### **Principio**

Este método se fundamenta en la digestión ácida y alcalina de la muestra hidrolizando las proteínas, grasas y la mayoría de los carbohidratos obteniéndose un residuo de fibra cruda, las sales que son calcinadas posteriormente se determina la fibra cruda, representando así el proceso de digestión que ocurre dentro del aparato digestivo de los animales. (A.O.A.C. 1990) (FAO. 1986)

##### **Procedimiento**

El análisis se realizó por duplicado, se determinó para la materia prima, pellets y heces del cuy de la alfalfa joven y madura.

1. Colocar los crisoles de gooch con lana de vidrio en la estufa de 105°C por tres horas como mínimo, hasta tener un peso constante.
2. Enfriar los crisoles de gooch en el desecador por media hora hasta su enfriamiento.
3. Pesar y registrar el peso del crisol con la lana de vidrio.
4. Pesar 1 g de muestra en papel aluminio. (P1)
5. Colocar la muestra pesada en el beaker de digestión de capacidad de 600 mL.
6. Añadir al beaker de 600 mL por los lados para no dañar la muestra 200 mL de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> al 7% (0.13 M) y 3 mL de alcohol-n-amílico.
7. Colocar los beaker en las hornillas del equipo de extracción de fibra quedando ajustado al equipo.
8. Abrir las llaves de agua del refrigerante del equipo.
9. Prender el equipo, regular la temperatura y esperar hasta que la solución empiece a hervir.
10. Tomar el tiempo desde que la solución empieza a hervir y dejar que se realice la digestión ácida de la muestra por 30 minutos exactos.
11. Una vez realizada la digestión ácida, bajar las parrillas del equipo, sacar los beaker y añadir 20 mL de NaOH al 22 %.
12. Colocar nuevamente los beaker en las parrillas del equipo, levantar las hornillas hasta que los beaker coincidan con los tubos refrigerantes del equipo.
13. Tomar el tiempo desde que la solución empieza a hervir y dejar que se realice la digestión alcalina de la muestra por otros 30 minutos exactos.
14. Una vez terminada la digestión alcalina, apagar el equipo, bajar las parrillas y sacar los beaker con la muestra digerida.
15. Conectar el kitasato a la bomba de vacío, colocar los crisoles de gooch en el kitasato y proceder a filtrar la muestra digerida en los crisoles.

16. Lavar bien el beaker con agua destilada caliente hasta que no quede ningún residuo de muestra y terminar la filtración.
17. Trasladar los crisoles con la muestra digerida y desengrasada a la estufa de 105 °C y dejar por 24 h para su secamiento.
18. Colocar el crisol en el desecador por media hora hasta su enfriamiento
19. Pesarse y registrar el peso del crisol con la muestra seca. (P2)
20. Luego colocar el crisol con la muestra seca en la mufla de 550 °C durante 4 h.
21. Sacar de la mufla el crisol con la muestra incinerada y ponerlos en el desecador por media hora hasta su enfriamiento.
22. Pesarse y registrar el peso del crisol con la muestra incinerada. (P3)

### **Cálculo**

$$\% \text{ F. C} = \frac{(P2 - P3)}{(P1)} \times 100$$

Donde:

F.C = Fibra cruda

P1 = Peso de la muestra

P2 = Peso del crisol con la muestra seca digerida

P3 = Peso del crisol con ceniza

$$\% \text{ F. C en base seca} = \frac{100 \times \% \text{ F. C}}{\% \text{ de Materia seca}}$$

### **2.4.3 Análisis complementario**

#### **2.4.3.1 Determinación de fibra detergente neutra Método de Ankom**

##### **Principio**

Se denomina fibra insoluble en detergente neutro (FDN) al residuo fibroso que queda luego de disolver con detergente neutro el contenido celular y las sustancias de fácil digestión que se encuentran en la pared celular. (ANKOM. 2005) (A.O.A.C. 1984)

##### **Procedimiento**

El análisis se realizó por duplicado, se determinó para la materia prima, pellets y heces del cuy de la alfalfa joven y madura.

1. Rotular debidamente las bolsas filtrantes.
2. Pesar las bolsas de filtro. (P1)
3. Pesar 0.5 g (+/- 0.05g) de la muestra molida y secada a 65°C. (P2)
4. Sellar las bolsas lo más cercano al borde cuidando que el lado interno de las mismas estén bien limpios para garantizar el sellado.
5. Distribuir las muestras uniformemente dentro de las bolsas.
6. Agregar 1500 mL de solución de Detergente Neutro y 4 mL de alfa amilasa (termoestable) dentro del vaso de digestión del equipo de Ankom.
7. Calentar hasta 90-100°C la solución de detergente dentro del vaso digestor antes de colocar las muestras.
8. Poner las bolsas con las muestras en la gradilla y una vez caliente la solución, colocar en el vaso digestor. Cerrar y sellar el vaso de digestión.
9. Después de 60 minutos detener la agitación y el calentamiento, abrir la válvula y dejar salir la solución. Una vez liberada la solución se debe volver a cerrar la válvula.
10. Después que la solución ha salido del vaso se abre la tapa del mismo. Se agrega aproximadamente 2000ml de agua destilada a 70-90°C y 4 mL de alfa amilasa. Se cierra el vaso y se prende el agitador por 5 min. Luego se libera el agua y se repite el procedimiento dos veces más o hasta obtener pH neutro en el agua de lavado descartada.
11. Sacar las bolsas del digestor y sacar el exceso de agua de las mismas presionando con los dedos.
12. Dejar secar las bolsas en la estufa de 65 °C por 24 h, completar el secado a 105°C durante 4 h.
13. Colocar las bolsas en desecador por media hora hasta su enfriamiento.
14. Pesar y registrar el peso de las bolsas con su muestra procesadas. (P3)

### **Cálculo**

$$\% \text{ F. D. N} = \frac{(P3 - P1)}{(P2)} \times 100$$

Donde:

F.D.N = Fibra detergente neutra

P1 = Peso de la bolsa de filtro

P2 = Peso de la muestra molida

P3 = Peso de la bolsa con la muestra procesada



### **2.4.3.2** *Determinación de la fibra detergente ácida Método de Ankom*

#### **Principio**

Se denomina fibra insoluble en detergente ácido (FDA) al residuo fibroso que queda luego de disolver el contenido celular y las hemicelulosas de la FDN (fibra insoluble en detergente neutro) empleando detergente ácido, el cual está constituido fundamentalmente por celulosa y lignina. (Van Soest, P. 1982) (A.O.A.C. 1984)

#### **Procedimiento**

El análisis se realizó por duplicado, se determinó para la materia prima, pellets y heces del cuy de la alfalfa joven y madura.

1. Rotular debidamente las bolsas filtrantes.
2. Pesar las bolsas de filtro. (P1)
3. Pesar 0.5 g (+/- 0.05g) de la muestra molida y secada a 65°C. (P2)
4. Sellar las bolsas lo más cercano al borde cuidando que el lado interno de las mismas estén bien limpios para garantizar el sellado.
5. Distribuir las muestras uniformemente dentro de las bolsas.
6. Agregar 1500 mL de solución de Detergente Acido dentro del vaso de digestión del equipo de Ankom.
7. Calentar hasta 90-100°C la solución de detergente dentro del vaso digestor antes de colocar las muestras.
8. Poner las bolsas con las muestras en la gradilla y una vez caliente la solución, colocar en el vaso digestor. Cerrar y sellar el vaso de digestión.
9. Después de 60 minutos detener la agitación y el calentamiento, abrir la válvula y dejar salir la solución. Una vez liberada la solución se debe volver a cerrar la válvula.
10. Después que la solución ha salido del vaso se abre la tapa del mismo. Se agrega aproximadamente 2000ml de agua destilada a 70-90°C. Se cierra el vaso y se prende el agitador por 5 min. Luego se libera el agua y se repite el procedimiento dos veces más o hasta obtener pH neutro en el agua de lavado descartada.
11. Sacar las bolsas del digestor y sacar el exceso de agua de las mismas presionando con los dedos.
12. Dejar secar las bolsas en la estufa de 65 °C por 24 h, completar el secado a 105°C durante 4 h.
13. Colocar las bolsas en desecador por media hora hasta su enfriamiento.
14. Pesar y registrar el peso de las bolsas con su muestra procesadas. (P3)

## Cálculo

$$\% \text{ F. D. A} = \frac{(P3 - P1)}{(P2)} \times 100$$

Donde:

F.D.A = Fibra detergente ácida

P1 = Peso de la bolsa de filtro

P2 = Peso de la muestra molida

P3 = Peso de la bolsa con la muestra procesada

### 2.4.3.3 Determinación de lignina detergente ácida Método de Ankom

#### Principio

El residuo de la fibra ácido detergente consiste principalmente de lignocelulosa, la solución de ácido sulfúrico (72%) disuelve la celulosa, quedando la lignina y la ceniza insoluble en ácido en el residuo final recuperado. La cutina también es retenida y consecuentemente se toma como si fuera parte de la lignina. (Van Soest, P. 1982) (A.O.A.C. 1984)

#### Procedimiento

El análisis se realizó por duplicado, se determinó para la materia prima, pellets y heces del cuy de la alfalfa joven y madura.

1. Rotular debidamente las bolsas filtrantes.
2. Pesar las bolsas de filtro. (P1)
3. Pesar 0.5 g (+/- 0.05g) de la muestra molida y secada a 65°C. (P2)
4. Sellar las bolsas lo más cercano al borde cuidando que el lado interno de las mismas estén bien limpios para garantizar el sellado.
5. Distribuir las muestras uniformemente dentro de las bolsas.
6. Después de determinar FDA, colocar las bolsas con muestra digerida dentro de un vaso de precipitados de 1 L y agregar 250 mL de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> al 72 %. Las bolsas deben estar completamente secas y a temperatura ambiente antes de agregar el ácido.
7. Poner un vaso de 500 mL dentro del vaso de 1 L para que las muestras queden sumergidas en el H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. Agitar 3 veces cada 30 minutos presionando con el vaso de precipitado de 500 mL.
8. Después de tres horas sacar el H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> y enjuagar con agua destilada (90- 100°C) para remover los restos del ácido. Repita este procedimiento hasta que el pH esté neutro.
9. Enjuagar con acetona durante 3 min para luego secar las bolsas en la estufa de 65 °C.
10. Completar el secado en la estufa de 105 °C durante 4 horas.

11. Enfriar en el desecador y pesar la bolsa. (P3)
12. Luego poner la bolsa en una cápsula previamente pesada (P4) y llevar a 525°C en la mufla durante 3 horas.
13. Enfriar en el desecador y pesar los crisoles con la ceniza (P5).

### **Cálculo**

$$\% \text{ L. D. A} = \frac{((P3 - P1) - (P5 - P4))}{(P2)} \times 100$$

Donde:

L.D.A = Lignina detergente ácida

P1 = Peso de la bolsa de filtro

P2 = Peso de la muestra molida

P3 = Peso de la bolsa con la muestra procesada

P4 = Peso del crisol tarado

P5 = Peso del crisol con ceniza

### **2.4.4 Análisis de digestibilidad “in vivo”**

#### **Principio**

La técnica se fundamenta en la utilización de animales de la misma especie, edad y sexo, es la ingestión de un alimento dado por raciones a los animales y la recolección total de las heces correspondiendo al alimento en investigación, luego la realización del análisis proximal de las heces y el alimento. (DIHIGO, L.E., et al. 2011. p. 4-6)

#### **Procedimiento**

1. Adecuar las jaulas metabólicas.
2. Colocar cada cuy en cada jaula (6 animales machos para la alfalfa joven y 6 animales machos para la alfalfa madura).
3. Pesar 50 – 60 g de muestra y registrar el peso.
4. Dar de comer a los animales de forma individual a la misma hora en la mañana y tarde. Los 5 primeros días acostumbrar a los animales al alimento y los 8 días siguientes recolectar las heces.
5. Pesar las heces recolectadas cada día y registrar el peso.
6. Secar las heces para realizar el análisis proximal.

## **Cálculo**

$$\text{DIV} = \frac{\text{Consumido} - \text{Excretado}}{\text{Consumido}} \times 100$$

Donde:

DIV = Digestibilidad “in vivo”

### **2.4.5 Análisis de digestibilidad “in vitro”**

#### **2.4.5.1 Técnica fluido ruminal**

### **Principio**

La técnica se realizó en Tunshi, se fundamenta en el uso de bolsas de dacrón, (bajo en nitrógeno), que contienen cierta cantidad de muestra en su interior, éstas son colocadas en el rumen de los animales fistulados durante 48 horas para una posterior digestión química con pepsina en el laboratorio. Se utiliza principalmente cuando se requiere de información acerca del efecto de las condiciones ruminales sobre la digestión de una muestra. Permite mantener constantes las condiciones ruminales. (DIHIGO, L.E., et al. 2011. p. 6-7)

### **Procedimiento**

1. Pesar las bolsitas de Dacrón en la balanza analítica. Registra el peso.
2. Pesar 2 g de muestra (molida en un tamiz de 2 mm de diámetro) y se coloca en las bolsitas de Dacrón. (2 fundas por cada animal)
3. Sellar las bolsitas que contienen la muestra utilizando un sellador de calor.
4. Verificar que el sellado sea correcto y que no exista pérdida del material a analizar.
5. Atar todas las bolsas en las cadenas de acero utilizando hilo nylon.
6. Colocar las bolsas en los bovinos fistulados.
7. Retirar las bolsas de los animales después de 48 horas de digestión.
8. Lavar las bolsas hasta eliminar residuos grandes.
9. Transportar las muestras al laboratorio utilizando coolers para mantener las muestras y detener la actividad microbiana.
10. Lavar nuevamente las bolsitas hasta que el agua de lavado sea clara.
11. Preparar la cantidad necesaria de Pepsina al 0,2 % en HCl a 0,1 N (corrigiendo el pH a 2)
12. Incubar a 37 °C las bolsitas con el residuo de digestión durante 48 horas.
13. Lavar las muestras en la lavadora automática durante 50 minutos en centrifugado lento.

14. Secar las bolsitas en la estufa a 65°C durante 48 horas.
15. Enfriar y pesar las bolsitas con los residuos secos.
16. Separar cada grupo de fundas correspondientes a una sola muestra y recolectar en un recipiente los residuos indigeridos.
17. Determinar el porcentaje de Materia Seca y Cenizas de las muestras indigeridas por duplicado.

### **Cálculo**

$$\text{DIVFR MS} = \frac{\text{MS INICIAL} - \text{MS RESIDUAL}}{\text{MS INICIAL}} \times 100$$

$$\text{DIVFR MO} = \frac{\text{MO INICIAL} - \text{MO RESIDUAL}}{\text{MO INICIAL}} \times 100$$

Donde:

DIVFR MS= Digestibilidad in vitro fluido ruminal de la materia seca

DIVFR MO= Digestibilidad in vitro fluido ruminal de la materia orgánica

#### **2.4.5.2 Técnica licor cecal**

### **Principio**

La técnica se fundamenta en dar de comer la muestra que se va analizar al animal, se utiliza en el licor cecal del cuy y la saliva artificial, incubando con las muestras por 48 horas para obtener una buena determinar de digestibilidad. (DIHIGO, L.E., et al. 2011. p. 3)

### **Procedimiento**

1. Dar de comer a 4 cuyes por 5 días de acostumbramiento con la muestra.
2. Matar al cuy, cortar el ciego del animal y sacar el licor cecal.
3. Pesar 75 g de licor cecal, adicionar 225 mL de saliva y mezclar (300 mL de inóculo)
4. A los 300 mL de inóculo añadir 1200 mL agua y mezclar.
5. Colocar toda la solución a los vasos de digestibilidad con las bolsitas de muestra.
6. Introducir los vasos en la incubadora a 40 °C por 48 h.
7. Lavar las bolsitas de muestra y secar en la estufa de 60 °C por 48 h.
8. Separar cada grupo de fundas correspondientes a una sola muestra y recolectar en un recipiente los residuos indigeridos.

9. Determinar el porcentaje de Materia Seca y Cenizas de las muestras indigeridas por duplicado.

### **Cálculo**

$$\text{DIVLC MS} = \frac{\text{MS INICIAL} - \text{MS RESIDUAL}}{\text{MS INICIAL}} \times 100$$

$$\text{DIVLC MO} = \frac{\text{MO INICIAL} - \text{MO RESIDUAL}}{\text{MO INICIAL}} \times 100$$

Donde:

DIVLC MS= Digestibilidad in vitro licor cecal de la materia seca

DIVLC MO= Digestibilidad in vitro licor cecal de la materia orgánica

### **2.4.5.3 Técnicas de enzimas (pepsina, pancreátina y viscozyme)**

#### **Principio**

La técnica se fundamenta en el uso de enzimas sintéticas que simulan la acción de las mismas enzimas propias del estómago del rumiante sobre los alimentos que sean objeto del análisis y con la simulación de las condiciones de pH y temperatura, las cuales estas enzimas realizan su acción como el estómago del animal, lo que permitirá obtener datos comparativos para establecer conclusiones y obtener resultados sobre la digestibilidad del alimento. (DIHIGO, L.E., et al. 2011. p. 4)

#### **Procedimiento**

1. Pesar las bolsitas de Dacrón en la balanza analítica. Registra el peso.
2. Pesar 0,5 g de muestra (molida en un tamiz de 2 mm de diámetro) y se coloca en las bolsitas de Dacrón.
3. Sellar las bolsitas que contienen la muestra utilizando un sellador de calor.
4. Verificar que el sellado sea correcto y que no exista pérdida del material a analizar.

#### **Primer período de incubación**

1. Introducir las muestras en un matraz Erlenmeyer de 1000 mL con una varilla magnética en su interior.
2. Añadir 25 mL de una solución tampón fosfato (0,1 M; pH=6) Buffer A, y 10 mL de HCl 0,2 M y se mezcla con un agitador magnético.

3. A continuación añadir 1 mL de una solución de pepsina en HCl 0,2 M (conteniendo 25 mg/mL de pepsina). Esta solución es inestable, por lo que debe prepararse inmediatamente antes de su utilización.
4. Para prevenir la contaminación microbiana se añaden 0,5 mL de una solución de cloranfenicol < 0,5 g/100 mL de etanol).
5. Mezclar bien el contenido del matraz en un agitador magnético y tapar con un tapón de goma.
6. Introducir el matraz en la estufa a 40 °C durante 1.5 h.

### **Segundo período de incubación**

1. Añadir a la mezcla 20 mL de una solución fosfato tamponada (0,2 M; pH=6,8), Buffer B, para mantener estable el pH, y 5 mL de una solución de NaOH 0,6 M, para neutralizar la solución. El pH se ajusta a 6,8 con HCl y NaOH 1 M.
2. A continuación añadir 1 mL de una solución de pancreatina en buffer B, conteniendo 100 mg/mL. Esta solución es inestable, por lo que debe prepararse inmediatamente antes de su utilización y debe estar perfectamente homogeneizada.
3. Mezclar bien el contenido del matraz y tapar con un tapón de goma.
4. Introducir el matraz de nuevo en la estufa a 40 °C durante 3.5 h.

### **Tercer período de incubación**

1. Transcurrido el segundo período de incubación, la misma solución ajustar el pH a 4,8 con ácido acético, añadir 0,5 mL de Viscozyme y mezclar bien.
2. Mezclar bien el contenido del matraz y tapar nuevamente
3. Introducir una vez más en la estufa a 40 °C durante 16 h.
4. A continuación realizar 2 lavados de unos 50 minutos con etanol y otros 2 con acetona.
5. Colocar los residuos en los crisoles e introducir en la estufa a 105 °C donde se secan a peso constante (hasta la mañana siguiente). Enfriar en un desecador y pesar para obtener la MS indigestible in vitro.
6. Luego introducir los crisoles en la mufla a 550 °C durante 3 h, dejar enfriar en un desecador y pesar, se obtiene la cantidad de cenizas, es la MO no digerida in vitro.

### **Cálculo**

$$\text{DIVE MS} = \frac{\text{MS INICIAL} - \text{MS RESIDUAL}}{\text{MS INICIAL}} \times 100$$

$$\text{DIVE MO} = \frac{\text{MO INICIAL} - \text{MO RESIDUAL}}{\text{MO INICIAL}} \times 100$$

Donde:

DIVE MS= Digestibilidad in vitro enzimas de la materia seca

DIVE MO= Digestibilidad in vitro enzimas de la materia orgánica

#### **2.4.6 *Análisis estadístico***

El tratamiento de los datos experimentales se llevó a cabo mediante el análisis de varianza (ANOVA) de un factor, cuando existieron diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) se comparó a través del test de Tukey.



## CAPITULO III

### 3 RESULTADOS Y DISCUSIONES

#### 3.1 Análisis físico y químico de los pellets

**TABLA 1-3. ANALISIS FISICO QUIMICO DE LOS PELLETS**

CORTE / PARÁMETRO		F1	F2
FISICO	SOLUBILIDAD %	22,22 ± 0,200	20,77 ± 0,220
	CAP. ABS DE AGUA %	27,94 ± 0,435	31,61 ± 0,630
	CAP. BUF. ÁCIDA meq	0,41 ± 0,010	0,43 ± 0,005
	CAP. BUF. BÁSICA meq	0,59 ± 0,010	0,60 ± 0,010
QUIMICO	HUMEDAD %	12,47 ± 0,006	16,97 ± 0,467
	CENIZA %MS	16,79 ± 0,269	16,13 ± 0,078
	PROTEINA % MS	19,00 ± 0,552	18,36 ± 0,792
	EXTRACTO ETERIO % MS	2,56 ± 0,353	2,15 ± 0,007
	FIBRA %MS	30, 61 ± 0,035	34,13 ± 0,106
	ELN	31,03 ± 0,508	29,21 ± 0,516

FUENTE: ABARCA G. indican diferencias significativas ( $p < 0,05$ ). MS = Muestra Seca F1 = Pellet con alfalfa joven. F2 = Pellet con alfalfa madura.

Los resultados del análisis físico químico de los pellets F1 (pellets con alfalfa joven) y F2 (pellets con alfalfa madura) que fueron utilizados en los ensayos: digestibilidad in vivo y digestibilidad in vitro (licor cecal, enzimas y fluido ruminal) se muestran en la tabla N°1.

Siendo la alfalfa deshidratada la principal materia prima de los pellets, forma parte de los alimentos fibrosos, por lo tanto, los análisis físicos pertinentes son: solubilidad, capacidad de absorción de agua y capacidad buferante; los resultados de estos parámetros tienen relación con la composición química.

Así, a mayor cantidad de fibra, la solubilidad será menor, mientras que la capacidad de absorción de agua aumentará. Los resultados obtenidos en esta investigación son coherentes con dicha relación, ya que F1 presentó 30,61% de fibra, 22,22% de solubilidad y 27,94% de capacidad de absorción de agua, mientras que F2 obtuvo 34,13% de fibra, 20,77% de solubilidad y 31,61% de

capacidad de absorción de agua. Esto concuerda con lo descrito por Savón, L et al (2004) en su estudio sobre Caracterización físico-química de la fracción fibrosa de cinco harinas de follajes tropicales para especies monogástricas, y con los resultados obtenidos por Valoy et al. (2012) en el análisis de Hidroforraje de *Leucaena leucocephala* para alimentar conejos.

La capacidad buferante ácida (CBA) y básica (CBB), es una medida de resistencia a variar el pH ante la adición de una base o un ácido, esta medida es importante debido a que durante el proceso de digestión en el tracto gastrointestinal del animal, el alimento sufre cambios drásticos de pH desde muy ácido (pH 1.0) a cerca de la neutralidad (pH 6.8 a 7.2), esto puede afectar la capacidad de absorción de nutrientes. Los resultados muestran que las dos formulaciones tienen mayor capacidad amortiguadora ante las bases que ante los ácidos, ya que la CBA fue para F1: 0,41 y para F2: 0,59 y la CBB fue para F1: 0,43 y para F2: 0,60; resultados similares fueron encontrados por Savón, L (2002) en la investigación de Alimentos altos en fibra para especies monogástricas: Caracterización de la matriz fibrosa y sus efectos en la fisiología digestiva. Mientras que para otros forrajes como la *Leucaena*, Valoy et al (2012) obtuvieron mayor capacidad buferante ácida que básica, concluyendo que este forraje tiene una mejor digestibilidad frente a la alfalfa, ya que si mayor es la capacidad buferante ácida beneficia a las condiciones de pH del medio gástrico.

La norma técnica ecuatoriana INEN 1645, Alimentos zootécnicos. Harina de alfalfa deshidratada, establece los requisitos que debe cumplir este producto, en cuanto a los requisitos químicos señala: humedad máximo 10%, cenizas máximo 12%, proteína mínimo 18% y fibra máximo 29%.

En la presente investigación las dos formulaciones de pellets sobrepasan el valor de humedad, cenizas y fibra debido a que los pellets se elaboraron no solamente con alfalfa deshidratada, sino que se incluyó agua (25 mL para F2 y 10 mL para F1), sales (4 g), y varió el tiempo de corte de la materia prima, lo que influyó en el porcentaje de fibra. La cantidad de proteína difirió estadísticamente, siendo F1 la que presentó mayor porcentaje (19%), comparada con F2 (18,36%), esto puede atribuirse a la edad de corte de la alfalfa. La Fundación Española para el Desarrollo de la Nutrición Animal (FEDNA) también indica los requisitos químicos para forrajes, comparada con esta norma los valores de proteína y extracto etéreo de los pellets (F1 y F2) están dentro de estos parámetros. Leyva, L. (2001) en la Prueba de digestibilidad in vitro con diferentes proporciones de la saliva artificial y flora microbiana en Alpacas, para los valores de proteína están dentro de los parámetros establecidos. Van Soest, P. en la Evaluación de forrajes y calidad de los alimentos para rumiantes su valor de Fibra es el 30% demostrando semejanza a la investigación.

### 3.2 Análisis de paredes celulares

El análisis de paredes celulares contribuye a determinar la calidad de los forrajes, permitiendo conocer la cantidad relativa de celulosa, hemicelulosa y lignina, que contribuyen al basamento estructural de la planta y que constituyen la fibra del forraje. Para esto se analiza la fracción, fibra detergente neutra (FDN) que contiene fundamentalmente celulosa, hemicelulosa y lignina, y se utiliza para estimar el consumo voluntario de materia seca (MS) por parte del animal. La fracción fibra detergente ácida (FDA), que se compone principalmente de celulosa y lignina, se utiliza para estimar la digestibilidad de la MS (DMS). El residuo que queda después del tratamiento con ácido sulfúrico de la FDA, contiene la lignina propiamente dicha (LDA) y representa la fracción totalmente insoluble, estos datos se correlacionan con el porcentaje de digestibilidad.

**TABLA 2-3. ANALISIS DE PAREDES CELULARES**

EDAD	FDN %	FDA %	LDA %
F1	47,54 ± 0,445	36,36 ± 0,215	8,29 ± 0,01
F2	48,63 ± 0,565	37,47 ± 0,43	12,07 ± 0,01

FUENTE: GABRIELA A. Indican diferencias significativas ( $p < 0,05$ ). FDN = Fibra Detergente Neutra, FDA = Fibra Detergente Acida, LDA = Lignina Detergente Acida.

Los resultados de los parámetros complementarios (Tabla 2), coinciden con los valores encontrados por Calsamiglia, S, (2004) en su estudio de la Alfalfa, heno en rama, Néstor, A. et al (1995) en la investigación de Conservación del forraje de alfalfa obtuvo valores similares para FDN y FDA. En la investigación de Guzmán, M. (2011) en la Comparación de inóculos microbianos en la determinación de la digestibilidad in vitro, el valor de FDN es similar a nuestra investigación. Lagos, E. (2006) en la Digestibilidad de forrajes en cuyes *Cavia porcellus* mediante la técnica in situ reportan FDA el 34.43% y FDN el 38.08%, estos resultados son bajos debido a la calidad de la alfalfa.

El valor FDN, estadísticamente no es igual para las dos formulaciones, presentando una ligera diferencia, esto concuerda con los valores obtenidos en el análisis de fibra. Considerando que este parámetro indica la cantidad del alimento que no es digerido por el animal, los pellets F1 son más digeribles que F2, en un 1,09%, así también la diferencia en FDA es mínima en las dos formulaciones, sin embargo F2 tiene 3,78% más lignina que F1, este compuesto complejo no es digerible por los microorganismos, ni por las enzimas intestinales, siendo responsable de una digestión incompleta de la celulosa y la hemicelulosa, este factor es el principal limitante de una buena digestibilidad de los forrajes. (PIRELA, Manuel. 2005. p. 176)

### 3.3 Análisis de digestibilidad

En la tabla 3, se observan los resultados del análisis de digestibilidad por los métodos: licor cecal, enzimas y fluido ruminal.

**TABLA 3-3. PORCENTAJE DE DIGESTIBILIDAD**

% DIGESTIBILIDAD	"in vivo"	"in vitro"		
		LICOR CECAL	ENZIMAS	FLUIDO RUMINAL
F1	53,648 ± 0,204 <sup>a</sup>	55,465 ± 0,247 <sup>b</sup>	71,017 ± 0,279 <sup>c</sup>	76,193 ± 0,391 <sup>d</sup>
F2	47,727 ± 0,595 <sup>a</sup>	49,908 ± 0,283 <sup>b</sup>	66,342 ± 0,275 <sup>c</sup>	74,707 ± 0,422 <sup>d</sup>

FUENTE: ABARCA G. Letras diferentes en la misma fila indican diferencias significativas (p<0,05).

Los resultados de digestibilidad de los productos F1 y F2 obtenidos en el ensayo "in vivo" son diferentes estadísticamente con los tratamientos "in vitro". Para los pellets elaborados con alfalfa deshidratada joven (30 días de corte), se obtuvo 53,648% de digestibilidad, la técnica in vitro que más se acerca a este valor es la de licor cecal, a través de la cual se obtuvo 55,465% de digestibilidad, existiendo una diferencia de 1,817%. Un patrón similar presentaron los resultados de los pellets elaborados con alfalfa madura (45 días de corte), la diferencia del porcentaje de digestibilidad entre las dos técnicas fue de 2,181%.

Los otros ensayos in vitro presentaron una diferencia mayor con la técnica in vivo, en la técnica de enzimas con una diferencia de 17,36% para F1 y 18,61% para F2 y en la técnica de fluido ruminal la diferencia fue aún mayor de 22,55% para F1 y 26,98% para F2.

Esto se debe a que el Cuy es un fermentador post-gástrico que posee microorganismos a nivel del ciego donde se ejecuta la fermentación bacteriana, permitiéndose obtener datos más reales mientras que la vaca es un fermentador pre-gástrico, es decir que una vez ingerido el alimento actúan los microorganismos del rumen, provocando la fermentación de parte de la pared celular, ayuda a que su digestibilidad sea mayor a las demás técnicas y también porque en el intestino grueso del cuy no tiene protozoos ni hongos anaeróbicos que degraden la fibra, mientras que los rumiantes presentan bacterias, protozoos y hongos que pueden degradar más de un tercio de la fibra en el rumen. (ÁLVAREZ, Diana. 2009. p. 19).

En la investigación de Chauca, L. (1997) de la Producción del Cuy (*Cavia porcellus*) tiene el 69,40% en la digestibilidad “*in vivo*” este porcentaje es más alto que el dato de la investigación debido al lugar de siembra, tipo de suelo y tiempo de corte. Arce, C (2003) en el Estudio comparativo de la digestibilidad de forrajes mediante dos métodos de laboratorio, utilizaron la técnica enzimática con celulasa proveniente del hongo *Penicillium funiculosum* con una digestibilidad de 68,84% concordando con la investigación. Leyva, L. (2001) en la Prueba de digestibilidad *in vitro* con diferentes proporciones de la saliva artificial y flora microbiana en Alpacas tiene una digestibilidad de fluido ruminal de 70% más o menos al porcentaje de digestibilidad de fluido ruminal de la vaca, su poca diferencia se debe a que la vaca tiene más cantidad de microorganismos.

### 3.4 Coeficiente de digestibilidad

**TABLA 4-3. COEFICIENTE DE DIGESTIBILIDAD DE LOS NUTRIENTES EN PELLETS DE LA ALFALA EN DOS ESTADOS DE CORTE**

EDAD	DMS	DMO	PROTEINA	GRASA	FIBRA	ELN
<b>F1</b>	54,22 ± 0,94	54,09 ± 1,16	62,89 ± 0,96	44,49 ± 0,21	35,78 ± 0,82	67,70 ± 0,21
<b>F2</b>	46,72 ± 0,59	47,34 ± 0,38	55,58 ± 1,16	16,34 ± 0,24	39,12 ± 0,47	54,05 ± 0,95

FUENTE: ABARCA G. Letras diferentes en la misma fila indican diferencias significativas ( $p < 0,05$ ). DMS = Digestibilidad de muestra seca. DMO = Digestibilidad de muestra orgánica.

Esta determinación nos indica el porcentaje de cada nutriente que es absorbido por el animal, los datos obtenidos en la investigación están dentro de los parámetros referenciales según Castro y Chirinos, (1994) en los Resúmenes de las reuniones científicas anuales de la Asociación Peruana de Producción Animal (APPA). 1976-1993 citado por Chauca, L. (1997) de la Producción del Cuy (*Cavia porcellus*) junto con la FAO, determinado que la proteína es el nutriente que más fue absorbido por el cuy.

La digestibilidad de la materia seca DMS y la digestibilidad de materia orgánica DMO es mayor para F1 que para F2 debido a su al tiempo de madurez de la alfalfa. Para los componentes nutricionales como es la proteína, grasa y fibra; el elemento que fue más absorbido por el animal es la proteína concordando con la bibliografía ya mencionada

## CONCLUSIONES

- La composición física y química de la alfalfa con diferente tiempo de corte, presentaron diferencia en el porcentaje de nutrientes y en las características físicas debiéndose a la cantidad de agua adicionada en la formulación de pellets y la maduración de la alfalfa.
- La digestibilidad “*in vivo*” y “*in vitro*” de la alfalfa joven fue mayor, comparada con la alfalfa madura en los diferentes métodos de ensayos utilizados, en la digestibilidad “*in vivo*” fue de 53,64% para alfalfa joven y de 47,72% para la alfalfa madura, en la digestibilidad “*in vitro*”, en licor cecal el resultado fue de 55,46% para la alfalfa joven y de 49,90% para la alfalfa madura, en enzimas fue de 71,01% para la alfalfa joven y de 66,34% para la alfalfa madura y para fluido ruminal fue de 76,19% para la alfalfa joven y de 74,70% para la alfalfa madura.
- Se determina en la investigación que el método más óptimo al ensayo *in vivo* es el del licor cecal, debido a que presenta la menor diferencia en la alfalfa joven con el 1,81 % y con la alfalfa madura con el 2,18%.

## RECOMENDACIONES

- Se tiene una mejor absorción de nutrientes utilizando la alfalfa joven por lo que se recomienda la utilización de este, para una buena digestibilidad.
- Para reducir costos y tiempo se recomienda utilizar la técnica de licor cecal debido a su mayor correspondencia con el valor real, y el uso de menor tiempo en su ejecución.
- Se recomienda a la Facultad de Ciencia Pecuarias, al Laboratorio de Nutrición Animal y Bromatología continuar con la investigación en la técnica de digestibilidad in vitro de fluido ruminal y enzimático para conocer cuál sería el tiempo óptimo de incubación que se semeje a la técnica de digestibilidad “in vivo”.

## **BIBLIOGRAFIA**

**AGUIRRE**, Jannet. “Determinación de la composición química y el valor de la energía digestible a partir de las pruebas de digestibilidad en alimentos para cuyes”. (Tesis) (Ing. Zootecnista). Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, Facultad de Ciencias Pecuarias, Escuela de Ingeniería Zootécnica, Riobamba-Ecuador. 2008, pp 17-19.

**ALVAREZ**, Diana. Eficiencia de la fermentación in vitro de los tractos gastrointestinales del monogástrico y del rumiante. (Tesis) (Magíster en Ciencias Agrarias con énfasis en Producción Animal Tropical). Universidad Nacional de Colombia, Facultad de Ciencias Agropecuarias, Palmira. 2009, pp 19.

**ANKOM**. Acid detergent fiber in feeds. Filter bag technique. Ankom Technology. 2005.

**A.O.A.C.** International (formerly the Association of Official Analytical Chemists) Official Methods of Analysis. Arlington, VA:AOAC international. No. 973. 1990, pp 82.

**A.O.A.C.** Official Methods of Analysis 13 th Edition, 1984.

**AYANZ**, Alonso. Fundamentos de Alimentación y Nutrición del ganado. Madrid-España. 2006, pp 4-5.

**CALSAMIGLIA**, Sergio. et al. Tablas FEDNA de valor nutritivo de Forrajes y Subproductos fibrosos húmedos. Fundación para el Desarrollo de la Nutrición Animal. Madrid-España. 2004, pp 70.

**CARPIO**, José. “Evaluación de la eficacia de cinco fertilizantes foliares con tres dosis en el cultivo establecido de Alfalfa (*Medicago sativa L.*) variedad morada extranjera”. (Tesis) (Ing. Agrónomo). Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, Facultad de Recursos Naturales, Escuela de Ingeniería Agronómica, Riobamba-Ecuador. 2011, pp 31-32.

**CARRO**, María. et al. El heno en la alimentación del ganado ovino. Digestibilidad e ingestión voluntaria. 1994, pp 57-61.



**COLOMBATTO, Darío.** Análisis de alimentos: Aplicaciones prácticas. Buenos Aires-Argentina. 2000, pp 1.

**CONCEPTOS GENERALES DE NUTRICIÓN ANIMAL,** Flores, Lina. 2010  
URL: <http://www.slideshare.net/lmflorez/conceptos-generales-de-nutricion-animal-1>  
2014/04/25

**CONCEPTOS NUTRICIONALES,** García, Iván.  
URL: <http://www.angelfire.com/ar/iagg101/images/vansoest2.PDF>  
2015/05/04

**CHAUCA, Lilia.** Producción del Cuy (*Cavia porcellus*), Lima-Perú 1997, pp 46.

**CHAVEZ, Mónica.** Definición de parámetros ideales para el almacenamiento y preservación de pacas de heno bajo condiciones naturales para la disponibilidad de un buen alimento para el ganado. (Tesis) (Ing. Agroindustrial). Escuela Politécnica Nacional, Facultad de Ingeniería Química y Agroindustrial, Quito-Ecuador. 2010, pp 5.

**CRAMPTON, E., HARRIS, L.** Análisis inmediato de los alimentos. Nutrición Animal Aplicada. 2a.ed. Zaragoza-España. 1979, pp 756.

**DIHIGO, L.E., et al.** Estudios de digestibilidad "in vitro" en aves, conejos y cerdos, Mayabeque-Cuba. 2011, pp 1-9.

**FAO.** Food and Nutrition Paper. Roma, 1986.

**FAO.** Nutrición Animal. Producción de cuyes (*Cavia porcellus*)  
URL: <http://www.fao.org/docrep/W6562S/w6562s04.htm>  
2015/02/02

**FAO.** Mejorando la nutrición a través de huertos y granjas familiares. Cría de cuyes  
URL: <http://www.fao.org/docrep/v5290s/v5290s21.htm>  
2014/04/14

**GARCÍA, Madeline.** “Caracterización de la actividad de las enzimas hidrolíticas en la región cecal de cuyes (*cavia porcellus*)”. (Tesis) (Med. Veterinario). Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Facultad de Medicina Veterinaria, E.A.P de Medicina Veterinaria, Lima-Perú. 2012, pp 20-26

**GUERRERO, Pedro.** Efecto de la adición de un producto peletizado elaborado a base de subproductos agroindustriales sobre los coeficientes de digestibilidad, parámetros energéticos y balance de nitrógeno en ovinos. (TESIS) (Ing. Agrónomo Zootecnista). Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, Departamento de Nutrición Animal, México-México. 2011, pp 5.

**INEC.** Sistema integrado de consultas de clasificaciones y nomenclaturas. 2012.

URL: [http://www.inec.gob.ec/estadisticas/SIN/co\\_alimentos.php?id=21139.03.01](http://www.inec.gob.ec/estadisticas/SIN/co_alimentos.php?id=21139.03.01)  
2015/05/17

**JUAN. Néstor, A., et al.** Conservación del forraje de alfalfa. Argentina-Buenos Aires. 1995, pp 1,3.

**LACHMANN, Mariela., ARAUJO, O.** La estimación de la digestibilidad en ensayos con rumiantes. Venezuela-Caracas. 2001, pp 1-3.

URL:[http://www.researchgate.net/profile/Omar\\_Araujo-](http://www.researchgate.net/profile/Omar_Araujo-Febres/publication/230823665_La_estimacin_de_la_digestibilidad_en_ensayos_con_rumiantes/links/0912f505112a176237000000.pdf)

[Febres/publication/230823665\\_La\\_estimacin\\_de\\_la\\_digestibilidad\\_en\\_ensayos\\_con\\_rumiantes/links/0912f505112a176237000000.pdf](http://www.researchgate.net/profile/Omar_Araujo-Febres/publication/230823665_La_estimacin_de_la_digestibilidad_en_ensayos_con_rumiantes/links/0912f505112a176237000000.pdf)

2015/05/17

**LEYVA, Luisa.** Prueba de digestibilidad in vitro con diferentes proporciones de la saliva artificial y flora microbiana en Alpacas. *Rev Inv Vet Perú.* Vol. 12. No 1. 2001, pp 1-4.

**NARVÁEZ, Juan., DELGADO, Julie.** Valoración de la técnica *In Vivo* aparente para la determinación de la digestibilidad de forrajes en cuyes (*Cavia porcellus*). Bogotá-Colombia. 2012, pp 16-19.

**NTE INEN. 1645.** Alimentos zootécnicos. Harina de alfalfa deshidratada. Requisitos. Quito-Ecuador. 1988, pp 2.

URL: <ftp://law.resource.org/pub/ec/ibr/ec.nte.1645.1988.pdf>

2015/05/17

**OSORIO**, Esteban. et al. Metodologías para determinar la digestibilidad de los alimentos utilizados en la alimentación canina. Bogotá-Colombia. 2012, pp 88.

**PARRA**, Jaime., **GOMÉZ**, Andrés. Importancia de la utilización de diferentes técnicas de digestibilidad en la nutrición y formulación porcina, *Revista MVZ Córdoba*, Vol. 14, No. 1, 2009, Córdoba-Argentina, pp 1-3.

**PIRELA**, Manuel. Valor nutritivo de los pastos tropicales. Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas. 2005, pp 176-177

URL:[http://www.avpa.ula.ve/docuPDFs/libros\\_online/manual-ganaderia/seccion3/articulo6-s3.pdf](http://www.avpa.ula.ve/docuPDFs/libros_online/manual-ganaderia/seccion3/articulo6-s3.pdf)

2015/05/17

**SAVÓN**, Lourdes. Alimentos altos en fibra para especies monogástricas. Caracterización de la matriz fibrosa y sus efectos en la fisiología digestiva, *Revista Cubana de Ciencia Agrícola*, Tomo 36, No. 2, 2002, Cuba-La Habana, pp 95-97.

**SAVÓN**, Lourdes., **GUTIERREZ O.** Propiedades Físico - Químicas de la Fibra, Instituto de ciencia animal, 1999, Cuba-La Habana, pp 7-15.

**SAVÓN**, Lourdes. et al. Caracterización físico-química de la fracción fibrosa de cinco harinas de follajes tropicales para especies monogástricas, *Revista Cubana de Ciencia Agrícola*, Tomo 38, No. 3, 2004, Cuba-La Habana, pp 291-295.

**TOBAL**, C.E Evaluación de los alimentos a través de los diferentes métodos de digestibilidad, 2012, pp 94-111.

URL: <http://www.biblioteca.unlpam.edu.ar/pubpdf/anuavet/n1999a16tobal.pdf>

2014/01/26

**VALOY**, **B.L.** et al. Hidroforraje de *Leucaena leucocephala* para alimentar conejos, *Revista Producción Animal*, Tomo 24, No. 1, 2012, Cuba-La Habana, pp 8.

**VAN SOEST**, **P.** Nutritional Ecology of the Ruminant. 1982.

**VAN SOEST, P.** Evaluación de forrajes y calidad de los alimentos para rumiantes. Italia-Nueva York, pp 100.

## ANEXOS

### Anexo A. Fotografías de las materias primas



**Fotografía No.1** Componentes para la elaboración del pellet



**Fotografía No.2** Pellet de alfalfa joven



**Fotografía No.3** Pellet de alfalfa madura

### Anexo B. Fotografías del análisis físico



**Fotografía No.4** Solubilidad



**Fotografía No.5** Capacidad de absorción de agua



**Fotografía No.6** Capacidad buferante ácida



**Fotografía No.7** Capacidad buferante básica

**Anexo C.** Fotografías del análisis químico



**Fotografía No.8** Humedad



**Fotografía No.9** Ceniza



**Fotografía No.10** Proteína



**Fotografía No.11** Extracto Eterio



**Fotografía No.12 Fibra**

**Anexo D. Fotografías del análisis complementario**



**Fotografía No.13 Fibra detergente neutra Método de Ankom**



**Fotografía No.14 Fibra detergente acida Método de Ankom**



**Fotografía No.15** Lignina detergente acida Método de Ankom

**Anexo E.** Fotografías del análisis de digestibilidad “in vivo”



**Fotografía No.16** Etapa de acostumbramiento



**Fotografía No.17** Recolección de heces



**Fotografía No.18** Pesar las heces y los residuos de la muestra prima



**Anexo F. Fotografías del Análisis de digestibilidad de fluido ruminal**



**Fotografía No.19** Bolsas de Dacrón



**Fotografía No.20** Vaca fistulada



**Fotografía No.21** Reactivo - Pepsina



**Fotografía No.22** Estufa de 65 °C

**Anexo G. Fotografías del análisis de digestibilidad de licor cecal**



**Fotografía No.23** Ciego del cuy



**Fotografía No.24** Reactivo - Licor cecal - Saliva



**Fotografía No.25** Vasos de digestibilidad



**Fotografía No.26** Incubadora a 40 °C

**Anexo H. Fotografías del análisis de digestibilidad de enzimas**



**Fotografía No.27** Periodo de la primera incubación



**Fotografía No.28** Periodo de la segunda incubación



**Fotografía No.29** Periodo de la tercera incubación