



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE QUERÉTARO
FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES
MAESTRÍA EN SALUD Y PRODUCCIÓN ANIMAL SUSTENTABLE

Composición química y digestibilidad "*in vitro*" de la proteína de las principales materias primas utilizadas en la alimentación de cerdos.

TESIS

Que como parte de los requisitos para obtener el grado de
Maestría en Salud y Producción Animal Sustentable

Presenta:

Q. A. Aurora Jáuregui Mejía

Dirigido por:

Dr. Gerardo Mariscal Landín

Campus Juriquilla
Santiago de Querétaro, Qro., México
Febrero 2025

La presente obra está bajo la licencia:
<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/deed.es>



CC BY-NC-ND 4.0 DEED

Atribución-NoComercial-SinDerivadas 4.0 Internacional

Usted es libre de:

Compartir — copiar y redistribuir el material en cualquier medio o formato

La licenciante no puede revocar estas libertades en tanto usted siga los términos de la licencia

Bajo los siguientes términos:



Atribución — Usted debe dar [crédito de manera adecuada](#), brindar un enlace a la licencia, e [indicar si se han realizado cambios](#). Puede hacerlo en cualquier forma razonable, pero no de forma tal que sugiera que usted o su uso tienen el apoyo de la licenciante.



NoComercial — Usted no puede hacer uso del material con [propósitos comerciales](#).



SinDerivadas — Si [remezcla, transforma o crea a partir](#) del material, no podrá distribuir el material modificado.

No hay restricciones adicionales — No puede aplicar términos legales ni [medidas tecnológicas](#) que restrinjan legalmente a otras a hacer cualquier uso permitido por la licencia.

Avisos:

No tiene que cumplir con la licencia para elementos del material en el dominio público o cuando su uso esté permitido por una [excepción o limitación](#) aplicable.

No se dan garantías. La licencia podría no darle todos los permisos que necesita para el uso que tenga previsto. Por ejemplo, otros derechos como [publicidad, privacidad, o derechos morales](#) pueden limitar la forma en que utilice el material.



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE QUERÉTARO
FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES
MAESTRÍA EN SALUD Y PRODUCCIÓN ANIMAL SUSTENTABLE

Composición química y digestibilidad “*in vitro*” de la proteína de las principales materias primas utilizadas en la alimentación de cerdos.

TESIS

Que como parte de los requisitos para obtener el grado de Maestría En salud y Producción Animal Sustentable

Presenta:

Q. A. Aurora Jáuregui Mejía

Dirigido por:

Dr. Gerardo Mariscal Landín

SINODALES

Dr. Gerardo Mariscal Landín
Presidente

Dra. Tércia Cesária Reis de Souza
Secretario

Dra. Araceli Aguilera Barreyro
Vocal

Dr. José Guadalupe Gómez Soto
Suplente

Dr. Konisgmar Escobar García
Suplente

Centro Universitario
Querétaro, Qro., México

Febrero, 2025

DEDICATORIA

A mis padres Ángel y María

Gracias por su amor y su apoyo.

A mis hermanas y hermanos con mucho cariño.

AGRADECIMIENTOS

A la UAQ

Agradezco enormemente la oportunidad que me dio la institución, así como el apoyo brindado para poder realizar y culminar mis estudios de maestría.

A Conahcyt

Agradezco todo el apoyo brindado con la beca en estos últimos dos años para poder realizar y concluir mis estudios de maestría.

Al Laboratorio de Nutrición Animal

Gracias por todo el apoyo brindado en cuanto a equipos y materiales para poder realizar mi trabajo experimental.

Al CENID - Fisiología del Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias.

Gracias a todo el apoyo brindado por haberme proporcionado las muestras de materias primas para realizar este proyecto.

A mis sinodales

Gracias al apoyo incondicional de mi director Dr. Gerardo Mariscal Landín, quien supo guiarme para realizar la evaluación de materias primas empleadas en la alimentación Animal, para evaluar su aprovechamiento como alimento para cerdos.

Agradezco de manera muy especial a la Dra. Tercia Cesária Reis de Souza por sus enseñanzas respecto al trabajo de tesis, así como el apoyo técnico en cuanto a reactivos, materiales y equipo de laboratorio, a la Dra. Araceli Aguilera Barreyro por guiarme y supervisar los análisis realizados en el laboratorio durante el desarrollo de este trabajo.

Gracias por todos sus oportunos comentarios sobre mi trabajo de tesis Dr. José Guadalupe Gómez y Dr. Konisgmar Escobar García.

Al director de la facultad de Ciencias Naturales

Dr. José Guadalupe Gómez, muchas gracias por todo el apoyo otorgado para poder terminar mis estudios de maestría

A mis compañeros y amigos

Agradezco su amistad incondicional, al igual que su apoyo moral.

ÍNDICE GENERAL

DEDICATORIA.....	i
AGRADECIMIENTOS	ii
ÍNDICE GENERAL.....	iv
ÍNDICE DE CUADROS	vi
ÍNDICE DE FIGURAS	vii
RESUMEN.....	viii
SUMMARY	ix
I. INTRODUCCIÓN.....	1
II. REVISIÓN DE LITERATURA	3
2.1 Alimentación del cerdo.....	3
2.2 Alimentación por etapas.....	5
2.2.1 Cerda de reemplazo.....	5
2.2.2 Cerda gestante.....	6
2.2.3 Cerda lactante	6
2.3. Digestibilidad de los alimentos	8
2.3.1 Digestibilidad <i>in vitro</i>	10
2.4 Maíz	10
2.5 Sorgo.....	12
2.6 Pasta de soya	17
2.7 Pasta de canola.....	18
2.8 Factores anti nutricionales (FAN)	19
2.9 Control de calidad de materias primas.....	20
III. HIPÓTESIS	22
IV. OBJETIVOS.....	22
4.1 Objetivo general:	22
4.1. Objetivos específicos:.....	22
V. MATERIAL Y MÉTODOS	23
5.1 Composición química.....	23
5.2 Digestibilidad <i>in vitro</i>	23
5.3 Factores anti nutricionales	24
5.3.1 Factor antitrípico	24

5.3.2	Ácido fítico	24
5.3.3	Taninos	25
5.3.4	Análisis estadístico.....	25
VI.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	26
6.1	Composición química.....	26
6.1.1	Materia seca, materia orgánica y cenizas.....	26
6.1.2	Fibra detergente neutra y Fibra detergente ácida.....	27
6.1.3	Proteína cruda.....	29
6.1.4	Extracto etéreo y energía	30
6.2.1	Digestibilidad <i>in vitro</i> de materia seca y de materia orgánica.....	31
6.2.2	Digestibilidad <i>in vitro</i> de la proteína cruda (DIVPC)	32
6.3	Factores anti nutricionales	33
6.3.1	Ácido Fítico.....	33
6.3.2	Factor inhibidor de tripsina	35
6.3.3	Taninos condensados.....	36
VIII.	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	38
IX.	ANEXOS	49
9.1	Técnica digestibilidad <i>in vitro</i> de proteína, materia seca y materia orgánica... 49	
9.1.2	Determinación de ácido fítico.....	53
9.1.3	Determinación de la actividad inhibitoria de tripsina.....	56

ÍNDICE DE CUADROS

	Página
1. Composición química de maíz y sorgo.....	12
2. Composición química de pasta de soya y pasta de canola.....	18
3. Materia seca.....	26
4. Materia orgánica y cenizas.....	27
5. Fibra detergente neutra y fibra detergente ácida en la materia orgánica.....	28
6. Extracto etéreo y energía.....	30
7. Digestibilidad <i>in vitro</i> de materia seca y materia orgánica	32
8. Digestibilidad <i>in vitro</i> de proteína.....	32
9. Contenido de fitato de sodio en las materias primas.....	33
10. Contenido de inhibidor de tripsina en pastas de semillas oleaginosas....	35

ÍNDICE DE FIGURAS

	Página
1. Estructura del grano de maíz.....	11
2. Estructura del grano de sorgo.....	13
3. Imagen de la matriz proteica del sorgo.....	15
4. Contenido de proteína cruda en las materias primas.....	29
5. Gráfico densidad de valores de contenido de fitato de sodio.....	34

RESUMEN

Para que la nutrición animal sea eficiente es necesario conocer las características químicas y la digestibilidad de las materias primas con las que se formulan los alimentos. El objetivo de este trabajo fue evaluar en las principales materias primas utilizadas en la alimentación de cerdos (maíz, sorgo, pasta de soya y pasta de canola), la digestibilidad *in vitro* de la proteína y el contenido de ácido fítico, factor antitripsico (pasta de soya y pasta de canola) y taninos en sorgo. Los resultados muestran que la digestibilidad *in vitro* promedio de la proteína del maíz fue de 85.64 ± 2.42 , del sorgo 63.29 ± 7.17 , en pasta de soya 90.01 ± 2.67 , y en pasta de canola 77.39 ± 2.15 . Respecto al contenido de ácido fítico, en el maíz fue de 1.16 ± 0.20 , en el sorgo 1.44 ± 0.33 g de fitato/ 100g, mientras que en pasta de soya y canola 2.63 ± 0.26 y 2.74 ± 0.54 g de fitato/ 100g respectivamente. La cantidad de factor antitripsico fue mayor en la pasta de soya (6.63 ± 0.49 mg de tripsina pura inhibida/g) que en la pasta de canola (0.29 ± 0.02 mg de tripsina pura inhibida /g). En el sorgo sólo en un 10.3 % de las muestras analizadas se encontró presencia de taninos y el promedio fue de 0.36 ± 0.30 mg de taninos/100g. De acuerdo con estos resultados se concluye que los valores de digestibilidad *in vitro* de la proteína en sorgo mostraron mayor variación entre sí, mientras que las pastas de oleaginosas tuvieron menor variación. La variabilidad de la composición química de las materias primas influyó sobre la digestibilidad *in vitro* fue más notoria en relación con el contenido de fibra. El ácido fítico está presente en menor cantidad en los cereales que en las oleaginosas. La pasta de soya es rica en factor antitripsico, mientras que en pasta de canola las cantidades son mínimas. El nivel de tanino de los sorgos depende de las variedades estudiadas. En este modelo de estudio el contenido de factores anti nutricionales presentes en las materias primas no afectó la digestibilidad *in vitro* de las materias primas.

Palabras claves: características químicas, digestibilidad *in vitro*, materias primas, proteína, factores anti nutricionales.

SUMMARY

For animal nutrition to be efficient, it is necessary to know the chemical characteristics and digestibility of the raw materials used in feed formulation. The objective of this work was to evaluate the *in vitro* digestibility of protein and phytic acid content in the main raw materials used in swine feed (corn, sorghum, soybean meal, and canola paste), the antitrypsin factor (soybean meal and canola meal) and tannins in sorghum. The *in vitro*, digestibility was chosen because this method is an alternative to the *in vivo* method. Anti-nutritional factors can affect the digestion of some nutrients, impacting the productive efficiency of pigs. The results show that the average protein digestibility of corn was 85.64 ± 2.42 , sorghum 63.29 ± 7.17 , soybean meal 90.01 ± 2.67 , and canola meal 77.39 ± 2.15 . Regarding the phytic acid content, in corn it was 1.16 ± 0.20 , in sorghum 1.44 ± 0.33 g phytate/100g, while in soybean and canola meal 2.63 ± 0.26 and 2.74 ± 0.54 g phytate/100g respectively. As for trypsin inhibitory activity, this was higher in soybean meal 6.63 ± 0.49 mg of pure trypsin inhibited/g, than in canola meal 0.29 ± 0.02 mg of pure trypsin inhibited /g, in the case of tannins in sorghum only in 10.3 % of the samples analyzed was found the presence of tannins and the average was 0.36 ± 0.30 mg of tannins/100g. Under these results, it is concluded that the values of *in vitro* digestibility of protein in sorghum showed greater variation among themselves, and compared with the values reported in the literature, both sorghum and corn showed variation, while the values obtained in the other raw materials soybean meal and canola meal are within the range of the values reported in the literature, the variability of the chemical composition of the raw materials influenced the *in vitro* digestibility was more visible with the fiber content. As for the anti-nutritional factors, variation was observed in the cereals, the level of phytates was higher in the oilseed meals, and the highest trypsin inhibitory activity was present in the soybean meal, the tannins content was detected in a low amount and only in a minority of samples analyzed, in this *in vitro* digestibility study model, no adverse effect was observed with the content of anti-nutritional factors present in the raw materials.

Key words: chemical characteristics, *in vitro* digestibility, raw materials, protein, anti-nutritional factors.

I. INTRODUCCIÓN

El mayor porcentaje de los costos de producción de cerdos recae en la alimentación, que corresponde aproximadamente a un 70 - 75%, razón por la que las y los productores requieren llevar un buen control de las variables productivas, identificación de ingredientes disponibles para formular sus raciones y evaluación del alimento formulado para lograr una mejor eficiencia alimenticia. Los principales cereales utilizados en México para la alimentación de cerdos son el maíz y el sorgo, son fuente de energía por su alto contenido de almidón, y como fuentes de proteína, las pastas de semillas oleaginosas: de soya (única proteína vegetal considerada como proteína completa), canola, ajonjolí, cártamo (García-Contreras et al., 2012; Rentería et al., 2021).

Por otra parte, los ingredientes utilizados para la formulación de alimentos tienen diversas características fisicoquímicas, perfil e interacciones nutritivas, así como costos que limitan su utilización, por lo que se requiere evaluar el alimento formulado para lograr una mejor eficiencia alimentaria. La proteína es un nutriente relativamente caro y muchos países dependen de fuentes de proteína importadas para la alimentación animal. También es importante analizar si las materias primas contienen factores anti nutricionales que puedan producir un efecto negativo sobre la digestibilidad de los aminoácidos (García y De Loera, 2007).

Las pruebas de digestibilidad de proteína más estudiadas son las “*in vivo*”, pero son costosas, difíciles de realizar y la obtención de respuesta es más lenta. Además, son cada vez más criticadas por razones de bienestar animal y se cree que se intensificará esta presión. Por lo tanto, existe interés por el uso de métodos *in vitro* rápidos y capaces para evaluar la digestibilidad de proteína en las materias primas utilizadas en alimentos de cerdos. Estos métodos alternativos tienen un margen de confianza aceptable y son de menor costo permitiendo la obtención de información sobre la disponibilidad de nutrientes presentes en las materias primas (Fuller, 1991).

En el presente experimento se pretende evaluar la composición química, y la digestibilidad *in vitro* del sorgo y el maíz, así como de oleaginosas como la pasta de soya y de canola utilizados en la alimentación de cerdos. El estudio de digestibilidad

in vitro permite realizar una selección de acuerdo con sus valores de digestibilidad evaluando su calidad nutricional de forma más rápida (Zaefarian et al., 2021).

Es importante el análisis de factores anti nutricionales (fitatos, factor antitripsico y taninos) en las materias primas estudiadas, ya que dependiendo de su concentración en el ingrediente es su interferencia con respecto a la utilización de los nutrientes: los fitatos reducen la disponibilidad de minerales Ca, Zn y Cu, al formarse complejos entre los grupos fosfato de la molécula del ácido fítico con los minerales y también pueden afectar la disponibilidad de los aminoácidos (Mateos et al., 2019). El factor antitripsico se caracteriza por inhibir principalmente la actividad de la tripsina y también causa pérdidas endógenas sobre las mucosas digestivas. Los taninos ocasionan astringencia, reducción de la palatabilidad y disminución de la utilización de la energía y la proteína; por ello es necesario considerar el contenido de estos factores en los ingredientes para tener en cuenta su efecto negativo al formular un alimento (Serrano et al., 2009).

II. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1 Alimentación del cerdo

La alimentación representa entre un 70 - 75 %, de los costos totales de producción de cerdos, por ello debe considerarse una prioridad razón por la cuál es necesario identificar ingredientes que mejoren la eficiencia alimenticia; debe estar basada en dietas que contengan niveles nutricionales adecuados a la genética, etapa fisiológica-productiva, estado sanitario de los animales y de la unidad de producción porcina, condiciones ambientales en donde estén alojados y al manejo al que estén sometidos los mismo (García-Contreras et al., 2012).

La alimentación se define como la serie de normas o procedimientos a seguir para proporcionar a los animales una nutrición adecuada, por lo tanto, se refiere a lo que se ofrece de comer: alimentos, cantidades y presentaciones. Los componentes básicos de un alimento son: agua, proteínas, aminoácidos, carbohidratos, lípidos, minerales y vitaminas (Shimada, 2009). Dependiendo del contenido de nutrientes, los ingredientes pueden ser clasificados en proteicos, energéticos, fibrosos, vitamínicos, minerales, aditivos y suplementos (NRC, 1994).

Por su parte, los ingredientes utilizados para la formulación de alimentos tienen diversas características físico-químicas, perfil nutritivo e interacciones nutritivas, nivel de inclusión, efectos productivos, así como costos que limitan su uso, el objetivo de formular una dieta es combinar diferentes ingredientes, de manera tal que esa combinación cubra las necesidades nutricionales de los cerdos y contribuya a la rentabilidad de la unidad de producción, considerando la etapa fisiológica, peso, edad, sexo, potencial genético, estado de salud, época del año, objetivos productivos y de producto final (García-Contreras et al., 2012).

Las fuentes de energía más utilizadas para la alimentación porcina son el maíz y sorgo por su alto contenido de almidones, las grasas y/o aceites y los subproductos agroindustriales como fuentes alternativas de energía por ejemplo subproductos del arroz, del trigo y de caña de azúcar, también están las fuentes energéticas altas en humedad como el plátano y la yuca (Campabadal, 2009).

Los ingredientes utilizados como fuentes de proteína para los cerdos son generalmente las pastas de soya, ajonjolí, cártamo, canola y alimento de gluten de maíz (Rentería et al., 2021). El uso y tipo de estos ingredientes depende mucho de la zona de producción o de las facilidades y precio de importación. En México como consecuencia de las presiones para satisfacer el consumo de maíz por la población humana, la mayoría de las dietas se formulan en base a sorgo-soya (Rentería et al., 2021).

La fracción fibrosa de los ingredientes generalmente se nombra como fibra dietética (FD), o solamente como fibra. La FD se define como el componente dietético resistente a la degradación por enzimas de los mamíferos, compuesto de carbohidratos no digestibles (CND) y lignina. La lignina no se utiliza en el tracto digestivo, mientras que los CND, que incluyen al almidón resistente (AR), los oligosacáridos no digestibles (OND) y polisacáridos no amiláceos (PNS), son componentes activos en la FD. El AR y OND son contenidos celulares de las plantas, mientras que PNS y lignina se derivan principalmente de las paredes celulares de las plantas (Stephen et al., 2017).

Los componentes fibrosos de los alimentos tienen diferentes clasificaciones según sus métodos analíticos. En general, los tres tipos de fibra, que incluyen fibra cruda (CF), fibra detergente neutro (FDN) y fibra dietética total (FDT), se miden mediante el método químico-gravimétrico, el método detergente (Se utiliza para analizar el contenido de fibra en nutrición animal) (van Soest, 1963; van Soest y Wine 1967) y el método enzimático-gravimétrico, respectivamente (Agyekum y Nyachoti, 2017).

Una atención especial debe ser dada a los ingredientes ricos en fibra utilizados en la alimentación de los cerdos, pues en general, las dietas ricas en FD tienen un valor nutritivo menor para los animales monogástricos, incluidos los cerdos, pues las enzimas digestivas de estos animales no son adecuadas para degradar los polisacáridos no amiláceos (Bedford y Schulze, 1998). Por lo tanto, la fracción fibrosa deberá ser fermentada por enzimas microbianas, lo que se realiza en mayor parte en el intestino grueso de los cerdos (Li et al., 2021).

2.2 Alimentación por etapas

Como se mencionó anteriormente, la alimentación de los cerdos debe cubrir los requerimientos nutricionales específicos de cada fase fisiológica en que se encuentra los animales. Por lo tanto, la alimentación del cerdo debe ser compatible con el grado de madurez de su aparato digestivo, para promover su desarrollo adecuado.

Generalmente los nutriólogos se basan en las recomendaciones de la publicación más conocida a nivel mundial el NRC (NRC, 2012), por sus siglas en inglés.

A continuación, se presentan algunos aspectos importantes de cada fase de alimentación de la especie porcina.

2.2.1 Cerda de reemplazo

Las cerdas jóvenes requieren de una dieta especial con un contenido de 15 - 17% de proteína, 0.80% de lisina, 0.85% de calcio, 0.45% de fósforo aprovechable y 3.3 Mcal/ kg de energía metabolizable. Esta dieta se suministra a libre voluntad hasta que las cerdas alcancen un peso de 100 kg (Campabadal, 2009). La alimentación de las cerdas de reemplazo durante su crecimiento influye sobre la edad a la que éstas inician su vida reproductiva (pubertad) y sobre el número de óvulos liberados (tasa ovulatoria) durante los primeros ciclos estrales, así como a la conformación de su estructura ósea, muscular y grasa. De acuerdo con investigaciones del INIFAP, la alimentación de cerdas de reemplazo debe de iniciar a partir de los 75 kg/120 días de edad (Mejía et al., 2007).

2.2.2 Cerda gestante

La alimentación de la cerda gestante sea joven o adulta debe de estar perfectamente balanceada para proporcionar todos los requerimientos de nutrimentos necesarios y optimizar los rendimientos productivos (Campabadal, 2009). Existen diferentes métodos de alimentación, todos utilizan un sistema de alimentación restringida y la cantidad de alimento depende de la composición de la dieta y de la etapa de gestación en que se encuentre la cerda, un método es el uso de alimento balanceado que está compuesto de una combinación de granos, de fuentes de proteína, de subproductos agroindustriales, vitaminas, minerales y aditivos. En esta etapa se justifica principalmente el empleo de forrajes como el ensilaje de maíz, alfalfa deshidratada, sorgo o pastos, pueden ser utilizados como la ración completa de la cerda gestante (Rentería et al., 2021).

La ración debe tener una composición de 14% de proteína, 0.65% de lisina, 0,90% de calcio, 0.40% de fósforo aprovechable y 2.8 a 3.0 Mcal/kg de energía metabolizable. La cantidad de alimento que se proporciona es restringida y fluctúa desde 1.5 a 3.5 kg/día, según la etapa de gestación (Campabadal, 2009). La inclusión de fibra en la dieta de la cerda gestante ayuda a mitigar el impacto de la restricción alimenticia a la que es sometida, y mejora el consumo de alimento en lactancia (Rentería et al., 2021).

2.2.3 Cerda lactante

La etapa de lactación comprende del nacimiento del lechón hasta el destete, por lo que su duración depende del período de destete que varía de 21 a 28 días. En general, una disminución en el aporte energético durante la lactación no afecta la producción de leche, la cual es mantenida gracias a la movilización de las reservas corporales maternas; sin embargo, si la restricción energética es particularmente severa (6.5 vs 16.5 Mcal EM/día) el crecimiento de las camadas se reduce (Koketsu et al., 1996; Rentería et al., 2021).

Los aportes en aminoácidos se calculan en función del aporte de lisina, que es el primer aminoácido limitante. Los aportes proteicos son expresados en cantidad de proteína bruta o de lisina proporcionada en el alimento (Mahan et al., 1971). La producción de leche depende de la cantidad y calidad del alimento consumido durante la lactación, así como de la capacidad de las cerdas para movilizar sus reservas corporales. El nivel de ingestión de lisina y de energía metabolizable, interactúan para influenciar la producción láctea (Tokach et al., 1992).

2.2.3 Semental

Estos animales deben alimentarse en forma restringida, con las mismas cantidades que se indican para cerdas gestantes con el sistema de alimento balanceado restringido, ya que un exceso de consumo de energía puede incrementar los problemas locomotores y disminuir su longevidad. Los sementales serán jóvenes hasta los 18 meses y posteriormente se consideran adultos para propósitos de su alimentación (de la Llata et al., 2006; Shimada, 2009).

2.2.5 Lechones destetados

El destete es uno de los eventos más estresantes en la vida del cerdo, predisponiéndolo a desórdenes digestivos en el corto y mediano plazo, afectando negativamente su productividad y su sobrevivencia. La formulación de dietas de iniciación para lechones debe ser cuidadosa, pues requiere ser de excelente calidad nutricional, ya que durante la lactancia el sistema enzimático del lechón, está adaptado para digerir los nutrientes de la leche, la absorción de proteínas lácteas, lactosa y lípidos (Reis de Souza y Mariscal, 1997). El cambio de la leche materna a una dieta sólida basada en almidón y proteínas de origen vegetal, hace que el TGI pase por un largo proceso de adaptación, debido a que éste no está preparado para digerir dichos nutrimentos (Reis de Souza et al., 2012). El aislado de proteína de soya y el concentrado de proteína de soya son materias primas bastante digestibles, por lo tanto, se les puede recomendar como complementos proteínicos de las dietas para lechones desde una temprana edad (Aguilera et al., 2006).

2.2.6 Alimentación del cerdo en crecimiento – finalización

La formulación moderna de alimentos para cerdos, en lo que respecta al aporte de macronutrientes, se basa en el uso de tres conceptos desarrollados en la segunda mitad del siglo pasado. El primero es el de proteína ideal, el cual se refiere a una proteína en la que todos los aminoácidos esenciales son co-limitantes para el rendimiento productivo del cerdo. Es decir, el suministro de aminoácidos coincide exactamente con su requerimiento y se toma como base al primer aminoácido limitante que en los cerdos es lisina (Wang y Fuller, 1989).

El segundo es el uso en la formulación de raciones del contenido de Energía Neta de las materias primas, optimizando el uso de los nutrientes por parte del animal al disminuir el uso de la proteína dietética como fuente de energía (Noblet et al., 1993). El tercero es el uso de la digestibilidad verdadera de los aminoácidos (Furuya y Kaji, 1991).

2.3. Digestibilidad de los alimentos

A medida que los cerdos se desarrollan en sus diferentes fases de producción el aparato digestivo va sufriendo cambios fisiológicos que le permiten mejorar el aprovechamiento de los alimentos. La digestibilidad es la fracción de alimento consumido que no aparece en las heces y, por lo tanto, se absorbe en el tracto gastrointestinal (Osorio et al., 2012). La elección de los ingredientes que se emplean en la nutrición animal en base a su calidad nutritiva expresada como digestibilidad, es inversamente proporcional al desarrollo de la capacidad digestiva, o sea, a la medida que los cerdos se desarrollan la necesidad de alimentos muy digestibles disminuye.

La eficiencia con la que el cerdo utiliza la proteína del alimento ingerido depende de la digestibilidad de ésta y de su perfil de aminoácidos, así como del contenido y equilibrio entre ellos en relación con los requerimientos del animal (García-Contreras et al., 2012; van Milgen y Dourmad, 2015).

Para expresar la digestibilidad de los alimentos algunos autores diferencian la digestibilidad aparente y estandarizada. La digestibilidad aparente no incluye los

aportes metabólicos y endógenos provenientes de enzimas, células epiteliales, células microbianas, metabolitos, entre otros, que llegan a la luz intestinal y son excretados en las heces; mientras que en la digestibilidad estandarizada estas fracciones de origen metabólico y endógeno se restan de la fracción excretada en las heces para la realización de los cálculos (Osorio et al., 2012).

El programa de Investigación en Nutrición Porcina de la Universidad Autónoma de Querétaro y del Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias del CENID Fisiología en Ajuchitlán, Querétaro, desarrollaron en México la metodología de estudio de la digestibilidad ileal de los aminoácidos, así como a la estimación de las pérdidas endógenas basales del nitrógeno y aminoácidos, tanto en lechones como en cerdos en crecimiento. Esto permitió generar información sobre los coeficientes de digestibilidad ileal estandarizada de los aminoácidos de los principales cereales utilizados en México: sorgo, maíz; y de diversas fuentes de proteína: pasta de canola, de ajonjolí, de cártamo.

Estos coeficientes de digestibilidad son utilizados para formular las dietas para cerdos, lo que repercute en el uso de las materias primas disponibles en el mercado (Mariscal et al., 2009; Rentería et al., 2021). También se han realizado análisis estadísticos de resultados de estudios de digestibilidad ileal aparente de la proteína cruda y los aminoácidos en cerdos, así como de otros datos sobre la pérdida ileal endógena basal de proteína cruda y aminoácidos de los alimentos comunes (cereales, pastas de semillas oleaginosas) con la finalidad de generar un conjunto de valores tabulados de la digestibilidad ileal aparente y estandarizada de la proteína cruda y los aminoácidos esenciales (Pedersen y Boisen, 2002).

Los alimentos no pueden evaluarse únicamente en términos de su digestión general en el tracto gastrointestinal, una estimación adecuada del valor nutritivo requiere que el sitio y los productos finales de componentes particulares del proceso digestivo deben separarse. Esto ha llevado al uso de métodos *in vivo*, especialmente aquellos basados en el uso de animales modificados quirúrgicamente, para ello se requieren instalaciones especiales, sin embargo, estos métodos son caros y lentos, además, existe una creciente preocupación por

el uso de animales para experimentos, por estas razones surge el interés por el desarrollo de métodos *in vitro* para evaluar la digestibilidad de diversas materias primas, con el fin de que estos métodos puedan utilizarse en laboratorios y se obtengan resultados en menor tiempo y sean reproducibles (Fuller, 1991).

2.3.1 Digestibilidad *in vitro*

El principio del método utilizado para medir la digestibilidad *in vitro* de nutrientes de los alimentos a nivel ileal y/o fecal; se basa en incubaciones con enzimas en un sistema cerrado, para simular la digestión, a nivel del estómago, intestino delgado y de ciego, seguido de mediciones de nutrientes, por lo general de material no digestible, Sin embargo, también puede basarse en mediciones de nutrientes disueltos o digeribles. Estos métodos se pueden dividir en sistemas de una, dos o múltiples enzimas (Boisen y Eggum, 1991; Fuller, 1991; Ramos, 1995; Boisen y Fernández, 1995).

La mayoría de los métodos se utilizan para estimar la digestibilidad de un solo nutriente, principalmente proteínas. El método enzimático *in vitro* de dos pasos con incubaciones de las enzimas pepsina y pancreatina se utiliza para estimar la digestibilidad prececal de materia seca y nitrógeno. En un estudio realizado se obtuvo una digestibilidad de nitrógeno en la pasta de soya de 92 % (Boisen y Eggum, 1991). Mientras tanto, en otro estudio se encontraron los siguientes valores de digestibilidad *in vitro* de nitrógeno: para el maíz 73 %, 80 % para la harina de canola, 66% para el sorgo y 91 % para la pasta de soya (Furuya et al., 1979).

2.4 Maíz

El cultivo del maíz (*Zea mays*) es el cultivo más importante para la economía de México, es un alimento básico. México es también centro de origen y centro de diversidad del maíz (Kato et al., 2009). Hoy en día, el maíz puede crecer desde ambientes áridos a húmedos y desde ambientes templados a muy cálidos, básicamente en tierras tropicales y subtropicales (Ruíz et al., 2008).

El amplio uso del maíz en la formulación de dietas para animales es razonable, considerando que, proporciona la más alta tasa de conversión a carne, leche y huevos comparado con otros granos que se usan con el mismo propósito. La composición y el aporte de nutrientes del grano de maíz destinado a la alimentación animal lo hace una materia prima de alto valor energético (el mayor entre los cereales), gracias a su alto contenido en almidón y grasa; representa una buena fuente de ácido linoleico (1,8% del total de extracto etéreo), ácido graso esencial en el metabolismo animal (Campos-Granados y Arce-Vega, 2016).

EL grano de los cereales está compuesto por dos estructuras principales: el pericarpio y la semilla. El pericarpio: es la cubierta del fruto, y forma una parte del salvado, esta capa se divide en dos: una exterior, conocida como alas de abeja, y otra interior formada por el endocarpio y una serie de células intermedias. El grano de maíz está compuesto por cuatro partes pericarpio, pedicelo, endospermo y germen (Figura 1).

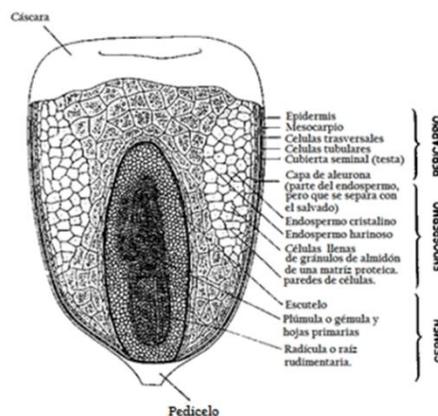


Figura 1. Estructura del grano de maíz (Martínez y Jiménez 2013).

La semilla se encuentra en el interior del pericarpio. La testa es la cubierta de la semilla que les da el color a los cereales, y el endospermo que es la capa más interna, constituye el tejido nutritivo de los cereales, además es el lugar de reserva de carbohidratos en forma de almidón, aunque también posee pequeñas cantidades de vitaminas, enzimas y ácidos grasos.

Dentro de la semilla se encuentra el germen o embrión, es la base de lípidos de la que se extrae el aceite de los cereales. La capa de aleurona, junto con las demás capas forma el salvado de los granos.

Las proteínas del grano del maíz después del almidón constituyen el siguiente componente químico del grano por orden de importancia. En las variedades comunes, el contenido de proteínas puede oscilar entre el 8 y el 11 % del peso del grano, y en su mayor parte se encuentran en el endospermo. La fracción nitrogenada del grano tiene una baja proporción de proteínas metabólicas solubles albúminas y globulinas (6%) y alta de proteínas de reserva: 40% de glutelina y 54% de prolamina (Church et al., 2004).

En el Cuadro 1 se muestra la composición química del grano maíz y de sorgo reportado en las tablas de FEDNA estos valores nutricionales presentados se refieren a los alimentos tal y como se les ofrecen a los animales, es decir, en su forma natural con un contenido de humedad variable (de Blas et al., 2019).

Cuadro 1. Composición química de maíz y sorgo (de Blas et al., 2019).

Nutrimento	Maíz	Sorgo
Materia seca (%)	86.4	87.0
Proteína cruda (%)	7.30	8.9
FDN (%)	9.0	8.8
Fibra cruda (%)	2.1	2.3
Cenizas (%)	1.1	1.1
Extracto etéreo 8%	3.3	3.0
Almidón (%)	63.8	64.2
FDA (%)	2.8	4.5

2.5 Sorgo

Es uno de los principales alimentos energéticos empleados en la alimentación animal, debido a que este cereal tiene un alto porcentaje de almidón (70%) y un porcentaje de proteína alrededor del 13.7%; sin embargo, su inclusión

en el alimento elaborado puede contribuir a una reducción en el desempeño productivo a diferencia de otros cereales como el maíz (Liu et al., 2013).

Los granos de sorgo presentan las mismas deficiencias que los demás granos, es pobre en calcio y carece de vitamina D, incluso en las variedades amarillas es pobre en caroteno, rico en complejo B, y contiene más niacina que el maíz (Morrison, 1991).

En la Figura 2 se muestra la estructura de un grano de sorgo que está compuesto por testa, endospermo córneo, endospermo harinoso, epicarpio escutelo, embrión. El grano de sorgo está constituido por: germen (10 %), endospermo (84 %) y pericarpio o capa externa (6%) (Gómez et al., 2009).

Se considera similar al grano de maíz por su composición química y su valor nutritivo (Morrison, 1991).

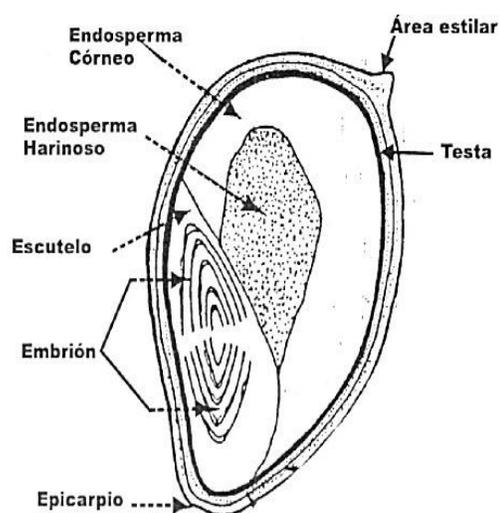


Figura 2. Estructura del grano de sorgo sección longitudinal (Frederiksen, 1986).

El grano de sorgo principalmente está compuesto por almidón que contiene amilosa (polímero lineal) y amilopectina (molécula ramificada) (Serna-Saldivar y Rooney, 1995). Generalmente en el grano la amilosa contiene un porcentaje de 24 hasta 33% (Beta et al., 2001). La barrera fisicoquímica que provoca una disminución en la actividad enzimática de la amilasa es la matriz proteica de kafirinas en la cual están envueltos los gránulos de almidón (Wong et al., 2009).

Wu et al., (2013) mencionan que los aminoácidos esenciales (lisina e isoleucina) están presentes en bajas cantidades en la proteína del sorgo por esta razón tienen un limitado valor biológico.

Las proteínas se clasifican de acuerdo con sus propiedades químicas y solubilidad, entre las clases más importantes se encuentran las albúminas (solubles en agua), glutelinas (solubles en soluciones ácidas y básicas), globulinas (solubles en solución salina), y prolaminas con características hidrófobas (solubles en alcohol) (Branlard y Bancel, 2006).

Los componentes mencionados anteriormente se encuentran dentro de una estructura denominada matriz proteica. En la Figura 3 Se observa una imagen en la que se representa la estructura y organización de la matriz proteica formada en su mayoría por glutelinas y en menores cantidades albúminas y globulinas (Seckinger y Wolf, 1973; de Mesa-Stonestreet et al., 2010).

Las albúminas y globulinas (10 a 30% de la proteína total) contienen una cantidad más alta de lisina en comparación con las prolaminas, mientras que las glutelinas constituyen del 27.7 % (Taylor et al., 1985) hasta el 50% del contenido de proteína (Beckwith, 1972; Bean et al., 2019).

Las kafirinas (prolaminas) se clasifican en función de su peso molecular y solubilidad en α , β , γ , y δ (Belton et al., 2006). Las α -kafirinas son las más abundantes del total de kafirinas, sus pesos moleculares oscilan en un rango de entre 23 a 25 kD, además contienen aminoácidos no polares. y se encuentran en forma de monómeros oligómeros y polímeros. Las β en forma de monómeros y polímeros y γ kafirinas en forma de oligómeros y polímeros. Ambas clases de kafirinas exhiben una extensa reticulación por enlaces disulfuro por lo que al exponer al calor húmedo o cocinar el grano de sorgo se forman agregados indigeribles los cuales no se solubilizan por reducción de enlaces disulfuro (Lasztity, 1996; Belton et al., 2006).

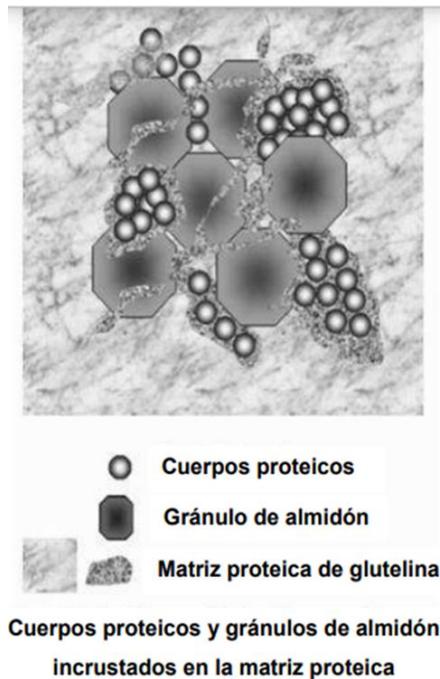


Figura 3. Imagen de la matriz proteica del sorgo (de Mesa-Stonestreet et al., 2010).

En las β -kafirinas el porcentaje va del 8 al 13%, su peso molecular es de 18 kDa, principalmente las constituyen los aminoácidos metionina y cisteína las γ -kafirinas su porcentaje es del 9 al 21%, su peso molecular es de 20 kDa y sus aminoácidos más abundantes son: prolina, cisteína e histidina (Belton et al., 2006).

Respecto a las δ -kafirinas tienen secuencias de aminoácidos relacionadas con las β , así como con las γ kafirinas sin embargo, son las menos caracterizadas por lo tanto no se ha identificado su concentración, pero su porcentaje es bajo, su peso molecular es de 13 kDa y contienen metionina (Belton et al., 2006).

Mariscal et al. (2009) y Gómez. (2017) describen que la variación de la digestibilidad de la proteína en los diferentes sorgos depende de su perfil de proteínas, ya que los sorgos con mayor proporción de kafirinas y glutelinas tuvieron una menor digestibilidad ileal de su proteína, lo cual se asoció a una mayor secreción de tripsina, ya que la secreción de las enzimas digestivas responde a la cantidad y tipo de sustrato.

Dentro de los componentes químicos a tomar en cuenta y que inciden en el proceso digestivo de las dietas elaboradas con sorgo se encuentran los taninos (Serrano et al., 2009). Son compuestos polifenólicos de alto peso molecular que forman complejos estables con las proteínas y otros polímeros tales como pectinas, celulosa y hemicelulosas (Mangan, 1988). Los efectos más importantes de los taninos se reflejan en su astringencia y en su poder para precipitar proteínas (Mateos et al., 2019).

Los taninos varían de 0.02 % o no detectables a 6.32 %. La diferencia de estos valores se debe a la variedad genética y a las condiciones agroecológicas (clima, suelo, nivel de fertilización, etc.) en las que se produjeron los sorgos (Salinas et al., 2006). Por su estructura y reactividad hacia los agentes hidrolíticos los taninos se clasifican en dos grupos: los taninos hidrolizables o ácidos tánicos y los taninos condensados (Reed, 1995; Avellaneda, 1999; Barros et al., 2012).

Los taninos condensados son los más abundantes en el grano de sorgo y ocasionan la mayoría de los problemas (astringencia, reducción de la palatabilidad y disminución de la utilización de la energía y la proteína) relacionados con el consumo de las variedades marrones de este cereal (Mangan, 1988; Barros et al., 2012).

Los taninos condensados (proantocianidinas) son polímeros flavonoides (polímeros de enlaces de flavo-3-ol mediante un enlace de carbón interflavano que no lo hace susceptible a hidrólisis), pero pueden ser degradados oxidativamente en ácidos fuertes para producir antocianinas (Belmar y Nava, 2005).

Por otro lado, los taninos hidrolizables consisten en una fracción de carbohidratos en los que los grupos hidroxilos están esterificados por ejemplo el ácido gálico y el ácido elágico de centros moleculares que consisten en polialcoholes, tales como los azúcares y los fenoles como la catequina.

El β - penta-O-galoil-D-glucosa es el ácido tánico y es el compuesto modelo para los taninos hidrolizables (Reed, 1995). Son compuestos fácilmente hidrolizables químicamente o por acción de enzimas y muestran menores efectos anti nutricionales que los taninos condensados (Mateos et al., 2019).

2.6 Pasta de soya

La soya fue clasificada por Linneo como de la familia Fabácea o Leguminosa, del género *Glycine* y de especie *G. max*. originaria de Asia, la soya es la oleaginosa de mayor importancia en el mundo, tanto por los volúmenes comercializados como semilla, como por los importantes subproductos que se obtienen, los que forman parte de una de una larga serie de cadenas agroindustriales (FAOSTAT, 2014; González et al., 2021).

La pasta de soya es un subproducto obtenido después de la extracción del aceite por presión o solventes en las semillas de soya, con reincorporación parcial de la cascarilla (Sauvant et al., 2004). Existen 3 tipos de pasta de soya, según el contenido garantizado de proteína y grasa, tenemos harina de soya del 46, del 48 y del 50 las cuales contienen un 43.3 %, 45.3% y 47.2% de PC, respectivamente (Macgregor, 1989; Sauvant et al., 2004).

En promedio la pasta de soya contiene de 42 a 48% de PC, 1 a 5% de EE, 3 a 7% de FC, 7 a 12% de FDN, 5 a 9% de FDA, 0.20 a 0.30% de CA, 0.60 a 0.70% de P y de 75 a 78% de TND, dependiendo el tipo de harina (Macgregor, 1989). En el Cuadro 2 se describe la composición química de la pasta de soya y de la pasta de canola, estos valores nutricionales presentados se refieren a los alimentos tal y como se les ofrecen a los animales, es decir, en su forma natural con un contenido de humedad variable.

Cuadro 2. Composición química de pasta de soya y pasta de canola (de Blas et al., 2019).

Ingrediente	Pasta de soya	Pasta de canola
Materia seca (%)	88.2	88.5
Proteína cruda (%)	47.0	36.0
FDN (%)	9.5	26.8
Fibra cruda (%)	4.6	12.6
Cenizas (%)	6.3	6.9
Extracto etéreo (%)	1.9	2.2
FDA (%)	7.2	19.8
Lignina (%)	0.4	6.5

2.7 Pasta de canola

La canola es la semilla de la colza (*Brassica napus* y *Brassica campestris*), que ha sido modificada genéticamente por medio de técnicas tradicionales de cruzamiento para tener niveles bajos de ácido erúxico (< 2%) en el aceite y de glucosinolatos (< 30 µmol/g) en la pasta. Los glucosinolatos se redujeron debido a su impacto negativo en su palatabilidad y efectos tóxicos en especies de animales (Canola Council, 2015).

La pasta de canola se obtiene de la semilla de ésta, que es pequeña y redonda de 1-2 mm de diámetro. La canola contiene aproximadamente de 42 a 43% de aceite que se extrae como aceite comestible de primera calidad (Hickling, 2001), la cual ha aumentado su demanda por su alto contenido de ácido linoleico (Rojo et al., 2001; Parra, 2003).

Al extraer el aceite, la pasta de canola queda con un alto porcentaje de proteína cruda (35-40%) y con un buen balance de aminoácidos. Aunque tiene menor contenido de proteína cruda (9-13 unidades porcentuales) que la pasta de soya y un menor contenido de lisina, sin embargo, la concentración relativa de treonina y de aminoácidos azufrados (metionina + cisteína) es mayor en la pasta de canola (Canola Council, 2015).

En la pasta de canola, la matriz de carbohidratos es bastante compleja y el nivel del almidón, azúcares libres y polisacáridos no amiláceos, alcanzan un total del 15%. Sin embargo, parece ser que estos carbohidratos están protegidos por paredes celulares. Esta pasta contiene el doble de fibra (12%) que la pasta de soya, por lo que tiene una menor cantidad de energía digestible (2.6 Mcal/kg) (Rojo et al., 2001; Parra, 2003).

2.8 Factores anti nutricionales (FAN)

Los FAN son sustancias naturales no fibrosas generadas por el metabolismo secundario de las plantas, como un mecanismo de defensa ante el ataque de mohos, bacterias, insectos y pájaros, o en algunos casos, productos del metabolismo de las plantas sometidas a condiciones de estrés, que al estar contenidos en ingredientes utilizados en la alimentación de animales ejercen efectos contrarios a su óptima nutrición, reduciendo el consumo e impidiendo la digestión, la absorción y la utilización de nutrientes por el animal (Belmar y Nava, 2005).

La presencia de FAN (factor antitripsico, ácido fítico, taninos, etc.) reducen la disponibilidad biológica y la digestibilidad de uno o más nutrientes, ocasionando disminución del consumo de alimento, eficiencia reproductiva y respuesta inmune (Brenes y Brenes, 1993).

Los inhibidores de las proteasas son proteínas capaces de reaccionar con las enzimas proteolíticas. Son mejor conocidos como inhibidores de la tripsina, aunque inhiben muchas otras enzimas como: quimotripsina, elastasa, plasmina, trombina, carboxipeptidasa, catepsina, amilasas y pepsina entre otras (Brenes y Brenes, 1993). El factor anti nutricio dominante en la pasta de soya es la actividad inhibitoria de tripsina, en la pasta de canola el ácido fítico (Aguilera, 2014).

El ácido fítico es un componente esencial de las semillas donde constituye una reserva de P y otros minerales que se liberarán durante la germinación. Fue descrito por primera vez por Pasternak en 1903 y consiste en una molécula de inositol con 1 a 6 grupos ortofosfato unidos mediante enlaces éster, tiene un alto potencial quelante, forma sales insolubles a pH neutro con numerosos cationes di y

trivalentes (Ca, Mg, Zn, Co, Fe, Mn, Cu) impidiendo su absorción a nivel intestinal, también puede formar complejos insolubles con proteínas y almidón, su interacción con proteínas es de tipo iónico (Wodzinski y Ullah, 1996).

Es un compuesto con actividad anti nutricional, debido a su capacidad de formar complejos insolubles con minerales y proteínas convirtiéndolos en no asimilables por el organismo bajo condiciones fisiológicas, es decir el fósforo del ácido fítico no es disponible para el hombre y animales monogástricos debido a que éstos no cuentan con fosfatasa endógenas (fitasas) que sean capaces de liberar el grupo fosfato de la estructura del fitato (Martínez et al., 2002).

La variabilidad existente en las concentraciones de los FAN y en su actividad justifica en gran medida la necesidad de evaluar diferentes procesos. Se ha confirmado plenamente que el tratamiento térmico mejora el valor nutritivo de las proteínas vegetales. El mecanismo de acción de este fenómeno puede estar basado en que facilita el acceso de las enzimas digestivas a los nutrientes, especialmente a las proteínas. A su vez, la efectividad de estos tratamientos depende de una combinación de factores que se relacionan con la temperatura, el tiempo, el tamaño de la partícula del alimento, la humedad inicial y la cantidad de agua añadida durante el proceso de calentamiento (Brenes y Brenes, 1993).

2.9 Control de calidad de materias primas

El control de calidad de las materias primas y del alimento elaborado es importante en la industria productora de alimentos para animales, debido a que ellos demandan el aporte de nutrimentos que les permita manifestar su potencial productivo (Black, 2000). Este control tradicionalmente se ha realizado utilizando determinaciones químicas, las cuales requieren personal capacitado (AOAC, 1990).

El estudio de los alimentos es un tema de mucha importancia, sin embargo, existen varias formas de estudiarlos, como es su composición química, palatabilidad y digestibilidad (Flores, 1981; Cullison, 1983).

La composición de los alimentos debe ser la base sobre la cual se decidan los ingredientes que deben emplearse y combinarse para producir alimentos balanceados. Una dieta balanceada debe contener alimentos energéticos y proteicos, así como suplementos minerales y vitamínicos (Shimada, 2009).

En la actualidad existe una gran competencia para la producción de alimentos para animales destinados al consumo humano, por lo cual los estudios sobre los alimentos son indispensables, con el fin de formular dietas adecuadas para la producción eficiente de leche, carne, huevo y lana en las diferentes especies pecuarias (Maynard et al., 1998; Rentería et al., 2021).

III. HIPÓTESIS

La digestibilidad *in vitro* de la proteína de alimentos proteicos como la pasta de soya y pasta de canola es mayor que la de los energéticos como el maíz y sorgo, y no se ve afectada por la cantidad de los factores anti nutricionales presentes en estas materias primas.

IV. OBJETIVOS

4.1 Objetivo general:

Evaluar la asociación entre la composición química, y la digestibilidad *in vitro* de materias primas utilizadas en la alimentación de cerdos.

4.2 Objetivos específicos:

- Verificar la composición química de la pasta de soya, pasta de canola, maíz y sorgo en función de sus contenidos de Materia seca (MS), Materia orgánica (MO), Fibra detergente neutra (FDN), Fibra detergente ácida (FDA), Cenizas, Energía y Extracto etéreo.
- Determinar la digestibilidad *in vitro* de la Proteína (DIVPC), Materia seca (DIVMS) y Materia orgánica (DIVMO) de la pasta de soya, pasta de canola, maíz y sorgo.
- Determinar el contenido de factores anti nutricionales (Fitatos, Factor antitripsico y Taninos) en las materias primas estudiadas.

V. MATERIAL Y MÉTODOS

El protocolo del presente trabajo fue evaluado por el Comité de Bioética de la Facultad de Ciencias Naturales y fue registrado con el número 96 FCN 2022.

Las muestras de maíz, sorgo, pasta de soya y pasta de canola se obtuvieron en el CENID - Fisiología, Ajuchitlán, Querétaro, México del Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias.

5.1 Composición química

Los análisis químicos de las materias primas se realizaron en el Laboratorio del INIFAP, Ajuchitlán, Querétaro, y en el Laboratorio de Nutrición Animal de la Facultad de Ciencias Naturales de la Universidad Autónoma de Querétaro.

Se evaluaron 30 muestras de pasta de soya (PS), 30 de pasta de canola (PCA), 29 de sorgo (SO) y 28 de maíz (M), de diferentes procedencias, las cuales se molieron a través de una malla de 1 mm. Se les determinó el contenido materia seca (MS) utilizando una estufa a 100° C. La cantidad de proteína cruda (PC) se determinó por el método de Kjeldahl (AOAC, 1990) y la cantidad de materia orgánica (MO), por diferencia de MS y cenizas, Fibra detergente neutra de materia orgánica FDN_MO, Fibra detergente ácida de materia orgánica FDA_MO, (van Soest, 1963; van Soest y Wine 1967). Extracto etéreo (AOAC, 1995) y Energía bruta analizó en una bomba calorimétrica adiabática 1281, Parr, Moline, IL. (datos reportados por el laboratorio del INIFAP).

5.2 Digestibilidad *in vitro*

Se determinó la Digestibilidad *in vitro* de PC, MS y MO utilizando una técnica enzimática de dos pasos, adaptando la metodología propuesta por (Boisen y Eggum, 1991). La adaptación del protocolo antes mencionado se hizo a través del uso del equipo Daisy Incubator en remplazo de la utilización de matraces (ver anexo 9.1). Se realizaron incubaciones *in vitro* con condiciones de temperatura y pH controlados, para que se desarrollara el proceso de digestión de manera similar al

que ocurre en el estómago e intestino delgado de los cerdos (pasos 1 y 2, respectivamente). Se utilizó la enzima pepsina seguida de pancreatina y una vez realizada la digestión se estimó la digestibilidad de proteína cruda, materia seca y materia orgánica a partir de los nutrientes no solubilizados.

5.3 Factores anti nutricionales

5.3.1 Factor antitripsico

Para las muestras de pasta de soya y pasta de canola se evaluó la actividad inhibitoria de tripsina empleando una solución de tripsina (Sigma T-7418) y L-BAPNA como sustrato (Sigma B-4875). En esta determinación el inhibidor de tripsina presente en el extracto de muestra formó un compuesto con la tripsina, esta reacción es de tipo molecular y permitió determinar el inhibidor de tripsina total, éste se mide con respecto a la cantidad inhibida de tripsina expresada en términos de unidades de tripsina, se determina por el aumento de absorbancia a 385 nm por ml de la mezcla de reacción de la muestra, el procedimiento utilizado fue el de la técnica descrita por Kakade et al. (1974) modificada por Smith (1980) y Stauffer (1990).

5.3.2 Ácido fítico

En las muestras de maíz, sorgo, pasta de soya y pasta de canola, se determinó el ácido fítico como fitato de sodio. Se pesó 0.5 g y se obtuvo un extracto de la muestra en una solución ácida, todos los reactivos empleados se prepararon con agua desionizada. Del extracto de muestra obtenido se preparó una dilución, se prepararon alícuotas de la dilución y se le adicionó el reactivo de Wade (reactivo empleado para la detección de fitatos), se mezcló y se centrifugó para medir la absorbancia del complejo formado en esta reacción, mediante una determinación colorimétrica en un espectrofotómetro a 500 nm. También se realizó una curva estándar de una concentración conocida de fitato de sodio y se hizo extrapolación de los datos de las muestras analizadas (Vaintraub y Latpewa, 1988, modificado por Gao et al. 2007).

5.3.3 Taninos

La determinación de taninos condensados en el sorgo se realizó mediante la técnica de la vainillina, el principio de esta se basa en la sustitución de un grupo hidroxilo fenólico por vainillina, la reacción de la vainillina y los taninos da un producto de condensación de color rojizo que se mide espectrofotométricamente a 492 nm. Se utilizó metanol para obtener el extracto de muestra, se hizo una curva de un estándar conocido (catequina), los extractos de muestra se protegieron de la luz, se aplicó la metodología y se incubaron para que ocurriera la reacción de la vainillina con los taninos, se realizó la lectura en un espectrofotómetro a una longitud de onda de 492 nm, después se hizo la extrapolación los datos de las muestras analizadas contra la curva estándar de catequina (Price et al., 1978).

5.3.4 Análisis estadístico

Para comparar las medias de cada grupo de materia prima estudiada se empleó una prueba de ANOVA de una vía para determinar las diferencias significativas entre las medias por materias primas empleando el paquete estadístico SPSS (IBM SPSS Statistics 27). Se consideró el valor de $P < 0.05$ para determinar las diferencias entre las medias de cada conjunto de materias primas.

VI. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

6.1 Composición química

Los resultados de la composición química de las materias primas se encuentran en los Cuadros 3, 4, 5, y en la Figura 4.

6.1.1 Materia seca, materia orgánica y cenizas.

En los Cuadros 3 y 4 se describen los resultados obtenidos de las muestras analizadas, se puede observar que los valores promedio de materia seca, materia orgánica y cenizas fueron similares entre el maíz y el sorgo; mientras que los valores promedio de materia orgánica y de cenizas (contenido de minerales) para pasta de soya y pasta de canola si presentaron una diferencia estadística.

Cuadro 3. Materia seca.

Materia prima	MATERIA SECA (%)			
	Media	Mínimo	Máximo	Desviación Estándar
M (n = 28)	89.51 ^{abc}	86.95	91.62	1.41
SO (n =29)	89.34 ^{ab}	84.98	91.64	1.63
PS (n =30)	90.53 ^{acd}	89.90	93.80	1.53
PCA (n= 30)	90.93 ^{cd}	88.39	94.73	2.06

M= Maíz, SO= Sorgo, PS= Pasta de soya, PCA= Pasta canola.

^{abcd} Literales en la misma columna son diferentes estadísticamente.

En la fracción de la materia seca se encuentran presentes los nutrientes de un alimento diferentes del agua. Sus componentes pueden clasificarse en materia orgánica y en materia inorgánica; la materia orgánica está conformada por carbohidratos, materia nitrogenada, lípidos y vitaminas; mientras que la materia inorgánica está compuesta por los minerales. Es importante expresar el contenido de nutrientes en base seca, debido a que en esa fracción se encuentran los nutrientes que va a consumir el animal, considerando que los alimentos presentan un porcentaje variable de humedad (Mendoza et al., 2022).

Cuadro 4. Materia orgánica y cenizas.

Materia prima	MATERIA ORGÁNICA BS (%)				CENIZAS (%)			
	Media	Mín	Máx	DS	Media	Min	Max	DS
M (n = 28)	98.70 ^a	97.46	99.13	0.37	1.30 ^a	0.87	2.54	0.36
SO (n =29)	98.60 ^a	97.64	98.98	0.28	1.40 ^a	1.02	2.36	0.28
PS (n = 30)	93.68 ^c	93.06	94.46	0.41	6.32 ^b	5.54	6.94	0.41
PCA (n = 30)	92.30 ^d	88.90	94.00	1.19	7.70 ^c	6.00	11.1	1.19

M= Maíz, SO= Sorgo, PS= Pasta de soya, PCA= Pasta canola, DS= Desviación estándar.

^{abcd} Literales en la misma columna son diferentes estadísticamente. (A)= M; (B)= SO; (C)= PS; (D)= PCA

Min: valor mínimo; Max: valor máximo.

Respecto a los valores obtenidos de las variables materia orgánica y cenizas en sorgo y maíz generalmente presentan valores similares, ya que se consideran alimentos análogos (Morrison, 1991). En el caso de la pasta de canola y pasta de soya los valores promedio de materia seca son similares, sin embargo, los valores de materia orgánica y cenizas son diferentes estadísticamente debido a que su composición química es diferente (de Blas et al., 2019).

6.1.2 Fibra detergente neutra y Fibra detergente ácida.

En el Cuadro 5 se puede observar que los resultados obtenidos de FDN en pasta de soya y sorgo fueron similares (9.56 % y 10.3%, respectivamente) $P > 0.05$. Mientras que el maíz tiene el contenido más bajo y la pasta de canola por lo contrario tiene el valor más alto de las materias primas estudiadas. En el caso de los valores promedio de FDA fueron diferentes estadísticamente ($P < 0.001$), la cantidad de FDA en un alimento es un indicador de digestibilidad; es decir entre más bajo sea el valor de FDA indica que la fibra en el alimento es más soluble y fácil de digerir, la materia prima con el menor contenido fue el maíz, mientras que la pasta de canola presentó el contenido más alto de FDA.

Cuadro 5. Fibra detergente neutra y fibra detergente ácida en la Materia Orgánica

Materia prima	FDN MO (%)				FDA MO (%)			
	Media	Mín	Máx	DS	Media	Mín	Máx	DS
M (n = 28)	8.01 ^a	6.14	10.72	1.30	3.30 ^a	1.68	5.01	0.73
SO (n =29)	10.37 ^b	7.66	17.87	2.44	5.08 ^b	3.60	7.19	0.79
PS (n = 30)	9.56 ^b	7.11	13.01	1.71	6.90 ^c	4.70	9.91	1.39
PCA (n = 30)	25.64 ^c	21.95	35.90	2.51	21.09 ^d	18.77	27.41	2.23

abcd Literales en la misma columna son diferentes estadísticamente.

M= Maíz, SO= Sorgo, PS= Pasta de soya, PCA= Pasta canola, DS= Desviación estándar.

Min: valor mínimo; Max: valor máximo.

El contenido de FDA en maíz, sorgo, y pasta de soya es bajo, esto coincide con los resultados obtenidos en este estudio. Se puede explicar porque generalmente los cereales contienen una gran cantidad de carbohidratos en forma de almidón y una baja cantidad de FDA (Church et al., 2004) y la pasta de soya es un subproducto obtenido después de la extracción del aceite en las semillas de soya y sólo tiene una reincorporación parcial de la cascarilla; y debido a esto su contenido es bajo (Sauvant et al., 2004). Sin embargo, el valor elevado de FDA (21.09%) en la pasta de canola se atribuye a su matriz compleja de carbohidratos, compuesta de almidón, azúcares libres y polisacáridos no amiláceos (Rojo et al., 2001; Parra, 2003).

El contenido de FDN y FDA son factores importantes a considerar en la dieta de los cerdos, ya que si su inclusión es alta puede disminuir la digestibilidad de proteína y carbohidratos afectando su salud y productividad. Esto sobre todo en animales jóvenes cuyo intestino grueso es inmaduro y su microbiota no está bien desarrollada y por lo tanto, la capacidad de fermentación de la fibra es baja. Los animales adultos como las cerdas tienen una mayor capacidad de fermentación que los cerdos en crecimiento, lo que se atribuye a la diferencia en el desarrollo intestinal y a una mayor población de microorganismos intestinales (Li et al., 2021).

6.1.3 Proteína cruda

En la Figura 4 se muestran los resultados del análisis de proteína cruda de maíz, sorgo, pasta de soya y pasta de canola. El contenido de proteína cruda del maíz y del sorgo fue similar ($P > 0.05$), mientras la de pasta de soya fue mayor que la de canola ($P < 0.001$) ambas tienen un alto valor proteico.

Los resultados fueron los esperados pues la pasta de soya y canola se clasifican como proteicos, cuya definición corresponde a alimentos que poseen un porcentaje $\geq 18\%$. Mientras que el maíz y sorgo son cereales considerados alimentos energéticos que contienen menos del 18% de proteína (NRC, 2012).

Los valores reportados en las tablas del NRC (2012) se utilizan como una referencia de los nutrientes que contienen las materias primas empleadas en la alimentación animal. Los resultados obtenidos en el laboratorio fueron parecidos a los reportados en tablas. Valores de proteína cruda de tablas de referencia: maíz 8.24 ± 0.93 , sorgo 9.36 ± 1.10 , pasta de soya 47.73 ± 2.30 y para pasta de canola 37.50 ± 3.01 (NRC, 2012). Las diferencias entre los valores obtenidos de las materias primas y los valores reportados en tablas se pueden atribuir a la calidad de los suelos, variedades empleadas para cultivo, además de una correcta fertilización que es determinante para la calidad de los alimentos producidos (FAO, 2015).

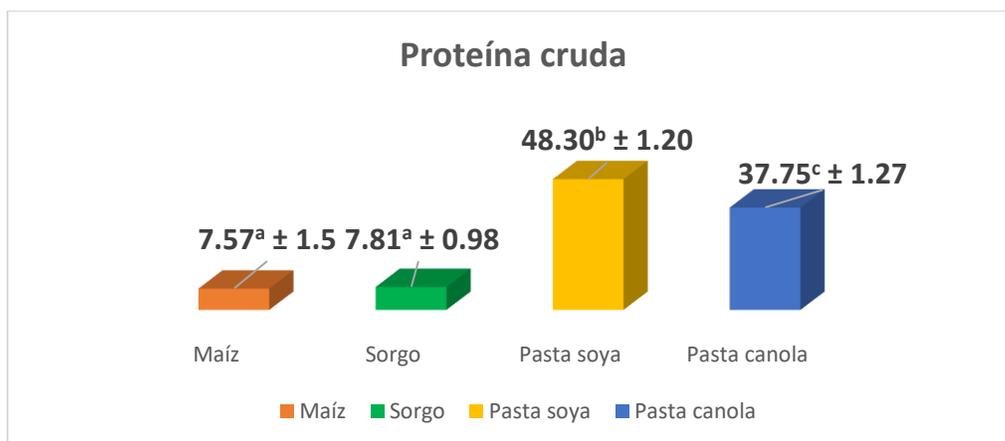


Figura 4. Contenido de proteína cruda en base seca de las materias primas.

En el caso de las pastas de semillas oleaginosas al ser un subproducto, las diferencias de su contenido de proteína; también, se pueden atribuir al proceso empleado en la extracción del aceite por presión o solventes en las semillas (Macgregor, 1989).

6.1.4 Extracto etéreo y energía

En general los valores promedio de extracto etéreo fueron diferentes estadísticamente ($P < 0.001$). El maíz es una materia prima de alto valor energético por su contenido de almidón y lípidos. En el Cuadro 6 se observa que el valor mayor de extracto etéreo lo obtuvo el maíz (4.01) y el valor menor fue para la pasta de soya (0.69). En el caso de la energía los valores fueron similares en los cereales ($P > 0.05$), a su vez entre las pastas de semillas oleaginosas también hubo similitud ($P = 0.31$).

Cuadro 6. Extracto etéreo y Energía.

Materia prima	Extracto Etéreo (%)				Energía (%)			
	Media	Mín	Máx	DS	Media	Mín	Máx	DS
M (n = 28)	4.01 ^a	2.23	7.09	0.94	4450.61 ^a	4395.19	4490.15	37.74
SO (n =29)	2.86 ^b	0.97	4.67	0.71	4451.78 ^a	4277.10	4644.28	77.64
PS (n = 30)	0.69 ^c	0.00	1.62	0.43	4694.83 ^b	4586.62	4832.47	64.16
PCA (n = 30)	1.55 ^d	0.74	3.07	0.56	4663.67 ^b	4504.87	4830.94	88.15

abcd Literales en la misma columna son diferentes estadísticamente.

M= Maíz, SO= Sorgo, PS= Pasta de soya, PCA= Pasta canola, DS= Desviación estándar.

Min: valor mínimo; Max: valor máximo.

Los resultados de extracto etéreo de este estudio indicaron estar en el rango de los valores reportados en la literatura (NRC, 2012). La pasta de soya contiene baja cantidad de extracto etéreo y la pasta de canola también, aunque si observó una variación entre valores en las materias primas, esto se debe al proceso de obtención del aceite de las semillas, en el cual se redujo considerablemente quedando sólo una mínima cantidad de aceite (NRC, 2012).

Para la variable energía en las muestras analizadas los resultados fueron similares para maíz, sorgo (4450.61 y 4451.78 Kcal/kg), mientras que en tabla de NRC (2012) se ha reportado un valor de sorgo mayor que en el maíz (3987, 4860 Kcal/kg); la diferencia de estos valores puede deberse a la variedad genética y a las condiciones agroecológicas (clima, suelo, nivel de fertilización, etc.) en las que se produjeron los cultivos (Salinas et al., 2006).

6.2 Digestibilidad *in vitro*

6.2.1 Digestibilidad *in vitro* de materia seca y de materia orgánica

La digestibilidad *in vitro* de la materia seca y materia orgánica de las materias primas evaluadas se muestran en el Cuadro 7. Al hablar de la digestibilidad *in vitro* de la materia seca se hace referencia a todos los nutrientes presentes, mientras que si se trata de digestibilidad *in vitro* de la materia orgánica no se toma en cuenta los minerales que contiene la materia prima.

La digestibilidad de la materia seca fue estadísticamente diferente en todas las materias primas ($P < 0.001$); sin embargo, el maíz tuvo el valor promedio más alto (80.10) debido a que los carbohidratos en forma de almidón que contiene son más fáciles de digerir y su cantidad de fibra es baja. La digestibilidad de pasta de soya, sorgo y pasta de canola fue (73.64, 69.45 y 54.65 respectivamente), en general los componentes que integran la materia seca fueron estadísticamente diferentes.

Los valores promedio de la digestibilidad *in vitro* de la materia orgánica fueron similares con sus respectivos valores de digestibilidad materia seca. Para el caso, de sorgo y pasta de soya para digestibilidad *in vitro* de la materia orgánica tampoco presentaron diferencias estadísticas entre ellos ($P > 0.05$).

Cuadro 7. Digestibilidad *in vitro* de materia seca y de materia orgánica.

Materia prima	DIVMS (%)				DIVMO (%)			
	Media	Min	Max	DS	Media	Min	Max	DS
M (n=28)	80.10 ^a	71.15	89.87	4.33	80.03 ^a	66.22	90.40	5.15
SO (N=29)	69.45 ^b	56.02	82.93	6.42	68.83 ^b	54.63	83.30	7.77
PS (n=30)	73.64 ^c	67.31	78.66	2.49	72.10 ^b	65.91	77.87	2.81
PCA (n=30)	54.65 ^d	50.77	58.86	1.63	52.07 ^c	44.46	56.20	2.45

DIVMS = Digestibilidad *in vitro* de la Materia Seca, DIVMO = Digestibilidad *in vitro* de la Materia Orgánica.

M= maíz, SO=sorgo, PS= pasta de soya, PCA= pasta de canola, DS= desviación estándar.

^{abcd} Literales en la misma columna son diferentes estadísticamente.

Min: valor mínimo; Max: valor máximo.

6.2.2 Digestibilidad *in vitro* de la proteína cruda (DIVPC)

La digestibilidad *in vitro* de la proteína cruda de las materias primas evaluadas se muestra en el Cuadro 8.

Cuadro 8. Digestibilidad *in vitro* de proteína cruda.

Materia prima	DIVPC			
	Media	Mínimo	Máximo	DS
M (n = 28)	85.64 ^a	79.73	88.96	2.42
SO (n =29)	63.29 ^b	46.55	80.06	7.17
PS (n = 30)	90.01 ^c	84.21	93.81	2.67
PC (n = 30)	77.38 ^d	73.94	83.26	2.14

DIVPC = digestibilidad *in vitro* de la Proteína Cruda.

M= Maíz, SO= Sorgo, PS= Pasta de soya, PC= Pasta canola, DS= Desviación estándar, DIVPC= P<0.001

^{abcd} Literales en la misma columna son diferentes estadísticamente.

Los valores obtenidos de digestibilidad *in vitro* de la proteína de las materias primas analizadas (pasta de soya, pasta de canola) están dentro del rango normal de los valores reportados en la literatura: 91 % para la pasta de soya y 80 % para la pasta de canola según Furuya et al. (1979); 83% para la pasta de canola y 92 %

para la pasta de soya de acuerdo con Boisen y Eggum (1991) y Domínguez et al. (1996). Para el maíz 78.25 % y sorgo 50.07% según Capetillo et al. (2001). En los cereales si se observó variación en los valores obtenidos en el presente estudio: el porcentaje obtenido fue mayor en el caso del maíz, comparado con los valores reportados por Furuya et al. (1979) para el maíz 73 %, 66% para el sorgo.

6.3 Factores anti nutricionales

6.3.1 Ácido Fítico

El ácido fítico se determinó como fitato de sodio, a continuación, se muestran los valores promedio para cada materia prima (Cuadro 9). Para maíz y sorgo el contenido de fitatos fue menor en ambos cereales que en las pastas de semillas de oleaginosas, en las cuales la concentración promedio de fitatos fue el doble.

Cuadro 9. Contenido de fitato de sodio en las materias primas

Materia prima	Fitato de sodio (g/100)	Mín	Máx	DS
Maíz (n = 28)	1.16 ^a	0.61	1.47	0.20
Sorgo (n = 29)	1.44 ^b	0.86	2.14	0.32
Pasta de soya (n = 30)	2.60 ^c	2.12	3.06	0.56
Pasta de canola (n = 30)	2.74 ^c	1.99	3.70	0.27

^{abc} Literales en la misma columna son diferentes estadísticamente.

DS= Desviación estándar.

Min: valor mínimo; Max: valor máximo.

Se hizo la comparación de medias del contenido de fitatos en las materias primas analizadas. Las medias del contenido de fitatos en maíz y sorgo fueron diferentes estadísticamente (P= 0.03), mientras que las medias de la pasta de soya y pasta de canola no presentan diferencias estadísticas entre ellas (P= 0.29), pero fueron diferentes comparadas al maíz y el sorgo.

En la Figura 5 se presentan los valores de fitatos en donde se muestra la densidad de los mismos. En esta gráfica de densidad se representa la distribución de los valores promedio de cada una de las materias primas maíz, pasta de soya, pasta de canola y sorgo, el ancho de cada imagen en la gráfica indica el rango del intervalo, mientras que el área muestra la población de datos que pertenecen a esa categoría y la altura indica la distribución de los valores cuantitativos a lo largo del intervalo.

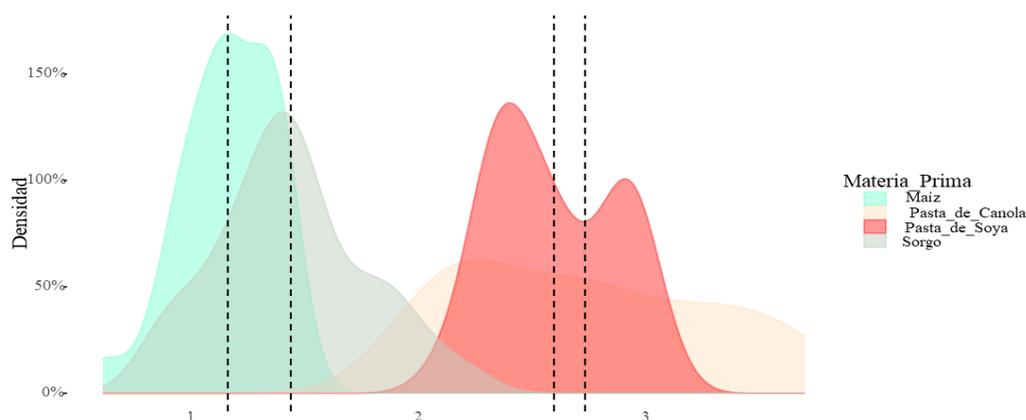


Figura 5. Densidad de valores del contenido de fitato de sodio.

El contenido de fitato de sodio en pasta de soya fue de 2.6 g/100 de alimento, mientras que en pasta de canola 3.7 g/100 (Aguilera, 2014). El valor reportado por (Canola Council, 2015) para la canola es de 2.3 g/100 de alimento.

En general las pastas de semillas oleaginosas tienen niveles de ácido fítico más elevados que van desde 1.7 a 4.8 % de fitatos (Martínez et al., 2002). Los valores de fitatos en el presente trabajo fueron más altos, en las pastas de oleaginosas que, en los cereales, debido al proceso empleado en la obtención de las pastas después de la extracción del aceite es lógico que los demás componentes presentes se concentren. Los fitatos tienen la capacidad de formar complejos: fitato-mineral-proteína, por lo tanto, tienen un efecto negativo en la digestión y absorción de minerales como calcio, magnesio, fósforo zinc (Brenes y Brenes, 1993; Belmar y Nava, 2005).

6.3.2 Factor inhibidor de tripsina

La pasta de soya presentó un nivel más alto del factor inhibidor de tripsina (Cuadro 10), siendo uno de los factores anti nutricionales más importantes presentes en esta materia prima (Sueiro et al., 2009). La pasta de canola presentó un bajo contenido de inhibidor de tripsina, gracias al mejoramiento del proceso de extracción del aceite de la canola en el que uno de los factores importantes a considerar es la temperatura adecuada para garantizar la disminución de este inhibidor de proteasas por la acción del calor, ya que tiene la característica de ser termolábil (Canola Council, 2015)

Cuadro 10. Contenido de inhibidor de tripsina en pastas de semillas oleaginosas.

Materia Prima	Inhibidor de Tripsina (mg/g)			
	Media	Mínimo	Máximo	DS
Pasta de Soya	6.63	6.13	7.38	0.49
Pasta de Canola	0.29	0.27	0.32	0.02

DS= Desviación estándar

La pasta de soya es una fuente de proteína vegetal extensamente empleada en la alimentación animal, pero contiene factores anti nutricionales como los fitatos y el factor inhibidor de la tripsina que tienen un efecto en el desempeño productivo de los animales (Sueiro et al., 2009; Aguilera, 2014). Afectando la digestibilidad de los nutrientes, disminuyendo el consumo de alimento y la respuesta inmune; inhibiendo muchas enzimas digestivas (Brenes y Brenes, 1993); impidiendo la absorción de minerales a nivel intestinal y también formando complejos insolubles con proteínas y almidón (Wodzinski y Ullah, 1996).

6.3.3 Taninos condensados

En las muestras de sorgo se detectó taninos condensados en una cantidad mínima de las muestras analizadas, el porcentaje detectado fue en promedio de: 0.36 ± 0.30 mg de taninos/100g. El trabajo realizado por Gómez et al. (2018) utilizando sorgos considerados bajos en taninos, las cantidades fueran tan pequeñas que no fueron detectadas en las pruebas de laboratorio. En muestras de sorgo alto en taninos el valor encontrado fue de 5.40%. Esta comparación de resultados indica que los sorgos analizados en el presente trabajo fueron bajos en taninos.

El contenido de taninos condensados depende de las condiciones agroecológicas en las cuales se haya cultivado el sorgo, existen variedades de sorgo que tienen su capa de la testa coloreada y, sin embargo, no hay presencia de taninos condensados, además estos compuestos son susceptibles a oxidarse una vez que el grano se ha molido (Price et al., 1978). Se usó el método del ensayo de la vainillina para la medición cuantitativa, al realizar esta determinación se observó la reacción característica de una determinada coloración que ocurre durante el tiempo de incubación una vez que se ha preparado la muestra, se observó la coloración en las muestras en las que se detectó estos compuestos y en el resto de las muestras no hubo cambio en la coloración.

CONCLUSIONES

Al iniciar la presente tesis se postuló la hipótesis de que La digestibilidad *in vitro* de la proteína de alimentos proteicos como la pasta de soya y pasta de canola sería mayor que la de los energéticos como el maíz y sorgo, y no se vería afectada por la cantidad los factores anti nutricionales presentes en estas materias primas.

La digestibilidad *in vitro* de proteína cruda fue más alta en la pasta de soya, el segundo valor fue para el maíz, después la pasta de canola y el valor menor de digestibilidad fue para el sorgo. La digestibilidad *in vitro* de materia seca y de materia orgánica fue mayor en el maíz, superando a la pasta de soya; mientras que en el sorgo y la pasta de canola se observó menor digestibilidad.

En este modelo de estudio no se observa la interferencia de los factores anti nutricionales (factor antitripsico, ácido fítico), sobre la digestibilidad *in vitro* debido a las propias condiciones del método de estudio.

El método de digestión *in vitro* no tiene problemas éticos relacionados con la investigación con animales y es de gran utilidad en la selección de ingredientes o materias primas para la formulación de dietas.

VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Aguilera, B.A. (2014). Pasta de ajonjolí (*Sesamum indicum*) un alimento proteico para cerdos y lechones recién destetados con base a sus características químicas y a la respuesta fisiológica del aparato digestivo. (Tesis Doctoral). Universidad Autónoma de Querétaro. Querétaro, Qro.
- Aguilera, B.M.A., Reis de Souza, T.C., Mariscal. L.G., Borbolla, A.G.S., Aguilera, B.A. (2006). Digestibilidad de nutrimentos en lechones alimentados con dietas con aislado o concentrado de proteína de soya. *Téc Pecu Méx.* 44(3):301-311.
- Agyekum, A.K., Nyachoti, C.M. (2017). Nutritional and metabolic consequences of feeding high-fiber diets to swine: A Review. *Engineering* 3(5):716–725.
- AOAC. (1990). *Official Methods of Analysis*. 15th ed. Association of Official Analytical Chemist. Arlington, VA.
- AOAC (1995). *Official Methods of Analysis*. 16th ed. Association of Official Analytical Chemists. Washington DC.
- Avellaneda, C.J.H. (1999). Efecto de cuatro sorgos con diferentes niveles de taninos sobre la digestibilidad ileal de la proteína, aminoácidos y actividad enzimática en cerdos en crecimiento. (Tesis Maestría). UNAM. FES Cuautitlán. México.
- Barros, F., Awika, J.M., Rooney, L.W. (2012). Interaction of tannins and other sorghum phenolic compounds with starch and effects on in vitro starch digestibility. *J. Agric Food Chem.* 60(46):11609-11617.
- Bean, S.R., Wilson, J.D., Moreau, R.A., Galant, A., Awika, J.M., Kaufman, S.L., Adrianos, S.L., Loerger, B.P. (2019). *Structure and Composition of the Sorghum Grain*. © ASA and CSSA, 5585 Guilford Road, Madison, WI 53711, USA. *Sorghum: State of the Art and Future Perspectives*, Ignacio Ciampitti and Vara Prasad, editors. *Agronomy Monograph* 58.

- Beckwith, A. C. (1972). Grain sorghum glutelin: Isolation and characterization. *J Agric Food Chem.* 4(20):761–764.
- Bedford, M. R., Schulze, H. (1998). Exogenous enzymes for pigs and poultry. Finnfeeds Internacional Ltd. Marlborough, Wiltshire, UK. *Nutr Res Rev.* 11(1):91-114.
- Belmar, R., Nava, R. (2005). Factores anti nutricionales en la alimentación de animales monogástricos. *Alimentación no Convencional para Animales Monogástricos en el Trópico.* Maracay, p 51.
- Belton, P., Delgadillo, I., Halford, N., Shewry, P. (2006). Kafirin structure and functionality. *J Cereal Sci.* 44(3):272–286.
- Beta, T., Obilana, A. B., Corke, H. (2001). Genetic diversity in properties of starch from Zimbabwean sorghum landraces. *Cereal Chem.* 78:583-589.
- Black, J.L. (2000). Principles behind feed formulation. (Ed. 1st). editors: In Moughan P.J. Verstegen M.W.A. Visser-Reineveld M.I. *Feed evaluation principles principles and practice.* The Netherlands: Wageningen Pers: 209-220.
- Boisen, S., Eggum, B.O. (1991). Critical evaluation of *in vitro* methods for estimating digestibility in simple-stomach animals. *Nutr Res Rev.* 4(11):141-162.
- Boisen, S., Fernández, J.A. (1995). Prediction of the apparent ileal digestibility of protein and amino acids in feedstuffs and feed mixtures for pigs by *in vitro* analyses. *Anim Feed Sci Technol* 51(1-2):29-43.
- Branlard, G., Bancel, E. (2006). Grain protein extraction. *Plant proteomics, methods and protocols.* *Methods Mol Biol.* 355:15–25.
- Brenes, A., Brenes, J. (1993). Tratamiento tecnológico de los granos de leguminosas: influencia sobre su valor nutritivo. CSIC y Lucta S.A. IX Curso de especialización FEDNA. España. Consultado en: http://www.etsia.upm.es/fedna/capitulos/93cap_11.pdf.

- Campabadal, C. (2009) Guía técnica para alimentación de cerdos. Ministerio de Agricultura y ganadería MAG. Gobierno de Costa Rica. Ubicado en <https://www.mag.go.cr/bibliotecavirtual/102-7847.pdf>
- Campos-Granados, C.M., Arce-Vega, J. (2016). Revisión de literatura. Sustitutos de maíz utilizados en la alimentación animal en Costa Rica. *Nutr Anim Trop.* 10(2):91-113.
- Canola Council. (2015). Guía para la industria de alimentos animales. Guía de alimentación de la pasta de canola. (Ed. 5ª). Consejo de Canola de Canadá.
- Capetillo, C. M., Abreu, J. E., Belmar, R. (2001). Estandarización de un método *in vitro* para la predicción del nitrógeno digestible en ingredientes de dietas para cerdos. *Rev Cuba de Cienc Agric.* 35(4):373-377
- Church, D.C., Pond, W.G., Pond, K.R. (2004). Fundamentos de nutrición animal. 2ª Edición. Editorial Limusa. México.
- Cullison. E.A. (1983). Alimentos y alimentación de animales., 1ª Edición. Editorial Diana México.
- de Blas, C.P., García-Rebollar, M. G., G.G. Mateos. (2019). Fundación Española para el Desarrollo de la Nutrición Animal Tablas FEDNA de composición y valor nutritivo de alimentos para la fabricación de piensos compuestos (4ª edición) Noviembre, Madrid. 604 pp. ISBN: 978-8409156887.
- de la Lata, M., Dritz, S., Rivas Y. (2006). Nutrición del semental. Memorias de XLI Nacional de Amvec, A.C., Ixtapa Guerrero, 16-19 de Julio.
- de Mesa-Stonestreet, N. J., Alavi, S., Bean, S. R. (2010). Sorghum proteins: The concentration, isolation, modification, and food applications of kafirins. *J Food Sci.* 75(5): R90-R104.
- Domínguez, P. L., Molinet, Y., Ly, J. (1996). Digestibilidad ileal e *in vitro* en el cerdo de tres macrófitos acuáticos flotantes. *Investigación ganadera para el desarrollo rural.* 8(4). Ubicado en <http://www.lrrd.org/lrrd8/4/ly841.htm>

- FAO. (2015). Food and Agriculture organization of the United Nations. Los suelos sanos son la base para la producción de alimentos saludables. 00153, Roma Italia. Ubicado en: <https://www.fao.org/soils-2015/news/news-detail/es/c/277721/>
- FAOSTAT. (2014). Food and Agriculture organization of the United Nations. Ubicado en: <https://faostat.fao.org/site/342/default.aspx>.
- Flores, M.J. (1981). Bromatología animal. (Ed. 2ª). Editorial Limusa. México.
- Frederiksen, R.A. (1986). Compendium of Sorghum Diseases. American Phytopathological Society. St Paul, Minnesota 55121.
- Fuller, M.F. (1991). *In vitro* digestion for pigs and poultry. C.A.B. International. pp.135-145.
- Furuya, S., Kaji, Y. (1991). Additivity of the apparent and true digestible amino acid supply in barley, maize, wheat or soya bean-based diets for growing pigs. Anim Feed Sci Technol. 32(4):321-331.
- Furuya, S., Sakamoto, K., Takahashi, S. (1979). A new *in vitro* method for the estimation of digestibility using the intestinal fluid of the pig. Br J Nutr. 41(3):511-520.
- Gao, Y.S.C., Sangha, M.A., Biyashev, R.M., Grabau, E.A., Kwanyuen, P., Burton J.W., Buss GR. (2007). A modified colorimetric method for phytic acid analysis in soybean. Crop Sci. 47(5):1797-1803.
- García-Contreras, A. C., de Loera, O.Y.G., Yagüe A.P., Guevara, G. J.A., García, A.C. (2012). Alimentación práctica del cerdo. Rev Complut de Cienc Vet. 6(1):21-50.
- García, C.A., de Loera, O.Y. (2007). Nutrição do reproductor suíno. Suínos & Cía. Rev Téc Suin. 22:10-20.

- Gómez, R.S., Ángeles, M.L., Mariscal, L.G., Mejía, G.C.A., Braña, V.D., Rentería F.J.A., Cuarón, I.J.A. (2009). Estrategias para el uso eficiente de materias primas en porcicultura. Centro Nacional de Investigación Disciplinaria en Fisiología y Mejoramiento Animal. INIFAP-SAGARPA. Libro Técnico No. 1, Colón, Querétaro, México.
- Gómez, S.J.G. (2017). Efecto del contenido de taninos y kafirinas del sorgo [*Sorghum bicolor* (L.) Moench] incorporado a la dieta sobre la morfofisiología gastrointestinal y la síntesis de proteína muscular en cerdos en crecimiento-finalización. (Tesis Doctoral). Universidad Autónoma de Querétaro. Querétaro, Qro.
- Gómez, S.J.G., Reis de Souza, T.C., Mariscal, L.G., Aguilera, B.A., Bernal, S.M.G., Escobar, G.K. (2018). Gastrointestinal morphophysiology and presence of kafirins in ileal digesta in growing pigs fed sorghum-based diets. *J Appl Anim Res.* 46(1):618–625.
- González, M.I.A., Félix, G. R., Leyva, M.K.Y., Quiroz, F.F.R., Maldonado, M.I.E. (2021). Etiología de la mancha foliar en soya (*Glycine max*) en Sinaloa, México. *Rev Mex Fitopatol.* 39(3):371-390.
- Hickling, D. (2001). Pasta de canola. Guía para la industria del pienso. Tercera edición. Instituto Internacional de Granos de Canadá.
- Kakade, M.L., Rackis, J., McGhee, J., Pusk, G. (1974). Determination of trypsin inhibitor activity of soy products: a collaborative analysis of an improved procedure. *Cereal Chem.* 51:376-382.
- IBM Corp. Publicado en 2020. IBM SPSS Statistics para Windows, versión 27.0. Armonk, NY: IBM Corp.
- Kato, Y.T.A., Mapes, S.C., Mera, O.L.M., Serratos, H.J.A., Bye, B.R.A. (2009). Origen y diversificación del maíz: una revisión analítica. Universidad Nacional Autónoma de México, Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad. 116 pp. México, D.F.

- Koketsu, Y., Dial, G.D., Pettigrew, J.E., Marsh, W.E., King, V.L. (1996). Influence of imposed feed intake patterns during lactation on reproductive performance and on circulating levels of glucose, insulin, and luteinizing hormone in primiparous sows. *J Anim Sci.* 74(5):1036–1046.
- Lasztity, R. (1996). *The chemistry of cereal proteins.* (Ed. 2ª) Routledge. pp. 22-24.
- Li, H., Yin, J., Tan, B., Chen, J., Zhang, H., Li, Z., Ma, X. (2020). Physiological function and application of dietary fiber in pig nutrition: A review. *J Anim Nutr.* 7(2):259-267.
- Liu, S.Y., Selle, P.H., Aaron, J., Cowieson, J. (2013). Strategies to enhance the performance of pigs and poultry on sorghum-based diets. *Anim Feed Sci Technol.* 181(1-4):1-14.
- Macgregor, C. (1989). *Directory of feeds and feed ingredients.* Hoard's Dairyman, USA.
- Mahan, D.C., Becker, D.E., Jensen, A.H. (1971). Effect of protein levels and opaque-2 corn on sow and litter performance during the first and second lactation periods. *J Anim Sci.* 32(3):470-475.
- Mangan, J.L. (1988). Nutritional effects of tannins in animal feeds. *Nutr Res Revi.* 1(01): 209-231.
- Mariscal, L.G., Reis de Souza, T.C., Hernández, D.A.A., Escobar, G.K. (2009). Pérdidas endógenas de nitrógeno y aminoácidos en cerdos y su aplicación en la estimación de los coeficientes de digestibilidad ileal de la proteína y aminoácidos de las materias primas. *Revisión Téc Pecu Méx.* 47(4):371-388.
- Martínez, D. B., Ibáñez, G. M. V., Rincón, L. F. (2002). Acido fítico: aspectos nutricionales e implicaciones analíticas. *Arch Latinoam Nutr.* 52(3):219-231. ubicado en http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0004-06222002000300001&lng=es&tlng=es.

- Martínez, M.E., Jiménez, V.V. (2013). Maíz (*Zea mays*). Ubicado en http://olimpia.cuautitlan2.unam.mx/semillas/index.php?option=com_content&view=article&id=19&Itemid=23%22
- Mateos, G.G., Cámara, L., de Juan, A.F., Aguirre, L., Fondevila, G. (2019). Factores anti nutricionales de los ingredientes y su impacto en alimentación de aves y porcino. XXXV Curso de especialización FEDNA Madrid, 7 y 8 de noviembre.
- Maynard, A. L., Loosli, K.J., Hintz, H.F., Warner. R.G. (1998). Nutrición animal. Séptima Edición. Editorial Mcgraw-Hill.
- Mejía, G.C.A., Cuarón, I.J.A., Rentería, F.J.A., Braña, V.D., Mariscal, L.G., Gómez, R.S. (2007). Alimentación del hato reproductor porcino. Colon, Qro., México: INIFAP-SAGARPA, Libro científico No.1.
- Mendoza, M. G. D., García, H. P. A., Plata, P. F. X., Martínez, G. J. A., Luis, A. J. García, H. A., Lee, R. H. A. (2022). Nutrición Animal cuantitativa. UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA.
- Morrison, B.F. (1991). Compendio de alimentación del ganado, 1ª Edición, Editorial Uthea. México.
- Noblet, J., Fortune, H., Dupire, C., Dubois, S. (1993). Digestible metabolizable and net energy values of 13 feedstuffs for growing pigs: effect of energy system. Anim Feed Sci Technol. 42(1-2):131-149.
- NRC. National Research Council. (1994). Nutrient requirements of poultry 9th Ed. Washington, DC: National Academy Press.
- NRC. National Research Council. (2012). Nutrient requirements of swine 11th Ed. Washington, D.C. National Academies.

- Osorio, C. E., Giraldo, C. J., Narváez, S. W. (2012). Metodologías para determinar la digestibilidad de los alimentos utilizados en la alimentación canina. *Rev Vet y Zootec.* 6(1):87-97. Ubicado en <https://revistasojs.ucaldas.edu.co/index.php/vetzootec/article/view/4450>
- Parra, S. (2003). Determinación del coeficiente de digestibilidad ileal aparente de pasta de canola y pasta de canola paletizada en lechones recién destetados y cerdos en crecimiento. Tesis de Maestría. UNAM, México.
- Pedersen, C., Boisen S. (2002). Establishment of tabulated values for standardized ileal digestibility of crude protein and essential amino acids in common feedstuffs for pigs. *Acta Agric Scand Sect A - Anim Sci.* 52(3):121-140.
- Price, M.L., Van Scoyoc, S. and Butler, L.G. (1978). A critical evaluation of the vanillin reaction as an assay for tannin in sorghum grain. *J Agric Food Chem.* 26(5):1214-1218.
- Ramos, T. M. A. (1995). Aplicación de técnicas enzimáticas de digestión *in vitro* a la valoración nutritiva de piensos de conejo. (Tesis Doctoral). Universidad Complutense de Madrid. España.
- Reed, J.D. (1995). Nutritional toxicology of tannins and related polyphenols in forage legumes. *J Anim Sci.* 73(5):1516-1528.
- Reis de Souza, T. C., Mariscal, L. G. (1997). El destete, la función digestiva y la digestibilidad de los alimentos en cerdos jóvenes. *Téc Pecu Méx.* 35(3):145-159.
- Reis de Souza, T.C., Mariscal-Landín, G., Escobar, G.K.E., Aguilera, B.A., Magné, B.A. (2012). Cambios nutrimentales en el lechón y desarrollo morfofisiológico de su aparato digestivo. *Vet Méx.* 43(2):155-173.
- Rentería, F.J., Gómez, R.S., López, H.L., Ordaz, O.G., Anaya, E.A., Mejía, G.C., Mariscal, L.G. (2021). Principales aportes de la investigación del INIFAP a la Nutrición Porcina en México: retos y perspectivas. *Rev Méx de Cienc Pecu.* 12(3):79-110.

- Rojo, G.A., Pérez M.V.G., P. Bayardo, U.A., Correa, C.J.H., Cuaron, I.J.A. (2001). Pasta de canola como suplemento proteico en dietas para finalización de cerdos. *Téc Pecu Méx.* 39(3):179-192.
- Ruíz, C.J.A., Durán, P.N., Sanchez, G.J.J., Ron, P.J., González, E.D.R., Holland, J.B. and Medina, G.G. (2008). Climatic Adaptation and ecological descriptors of 42 mexican maize races. *Crop Sci.* 48:1502-1512.
- Salinas, I., Pró, A., Salinas, Y., Sosa, E., Becerril C.M., Cuca, M., Cervantes, M., Gallegos, J. (2006). Compositional variation amongst sorghum hybrids: effects of kafirin concentration on metabolizable energy. *J Cereal Sci.* 44:342-346.
- Sauvant, D., Pérez, J., Tran, G. (2004). Tablas de composición y de valor nutritivo de las materias primas destinadas a los animales de interés ganadero. Ediciones Mundi-Prensa. España
- Seckinger, H., Wolf, M. (1973). Sorghum protein ultrastructure as it relates to composition. *Cereal Chem.* 50(4):455–465.
- Serna-Saldivar, S., Rooney, L.W. (1995). Structure and chemistry of sorghum millets. 69-124. En: *Sorghum and millets. Chemistry and technology.* D.A.V. Dendy, American Association of Cereal Chemists: St. Paul, MN.
- Serrano, J., Puupponen-Pimia, R., Dauer, A., Aura, A-M., Saura-Calixto, F. (2009). Tannins: Current knowledge of food sources, intake, bioavailability and biological effects. *Mol Nutr Food Res.* 53:S310-S329.
- Shimada, M.A. (2009). *Nutrición Animal.* Editorial: trillas. (Ed. 2ª). México. (pp.18, 26,32).
- Smith, C., Megen, W.V., Twaalfhoven, L., Hitchcock, C. (1980). The determination of trypsin inhibitor levels in foodstuff. *J Sci Food Agric.* 31(4):341-350.
- Stauffer, C.E. (1990). Measuring trypsin inhibitor in soy meal: Suggested improvements in the standard method. *Cereal Chem.* 67(3):296-302.

- Stephen, A. M., Champ, M. M.-J., Cloran, S. J., Fleith, M., van Lieshout, L., Mejbourn, H., Burley, V. J. (2017). Dietary fibre in Europe: current state of knowledge on definitions, sources, recommendations, intakes and relationships to health. *Nutr Res Rev.* 30(02):149190.
- Sueiro, S., Hermida, M., González, M., Serrano, M. P., Mateos, G.G. (2009). Contenido en inhibidores de tripsina de la harina de soja según origen: comparación de dos métodos analíticos (2009). Departamento de Producción Animal, UPM. Ciudad Universitaria, s/n. 28040, Madrid AIDA, XIII Jornadas sobre Producción Animal, Tomo I, 220-222.
- Taylor, J.R.N., Schüssler, L., Liebenberg, N. V. D. W. (1985). Protein Body formation in the starchy endosperm of developing *Sorghum bicolor* (L.) *Moench* seeds. Sorghum Beer Unit Council for Scientific and Industrial Research, Pretoria. S. *African J Bot.* 51(1):35-40.
- Tokach, M.D., Pettigrew, J.E., Dial, G.D., Wheaton, J.E., Crooker, B.A., Johnston, L.J. (1992). Characterization of luteinizing hormone secretion in the primiparous, lactating sow: relationship to blood metabolites and return-to-estrus interval. *J Anim Sci.* 70(7):2195-2201.
- van Milgen, J., Dourmad, J-Y. (2015). Concept and application of ideal protein for pigs. *J Anim Sci Biotechnol.* 6(1):1-11.
- van Soest, P. J. (1963). Use of detergents in the analysis of fibrous feeds. II. A rapid method for the determination of fiber and lignin. *J AOAC Int.* 46(5):829-835.
- van Soest, P. J., Wine, R. H. (1967). Use of detergents in the analysis of fibrous feeds. IV. determination of plant cell-wall constituents. *J AOAC Int.* 50(1):50-55.
- Vaintraub, I.A., Lapteva, N.A. (1988). Colorimetric determination of phytate in unpurified extracts of seeds and the products of their processing. *Anal Biochem.* 15(1):227-230.

- Wang, T.C., Fuller, M.F. (1989). The optimum dietary amino acid pattern for growing pigs. *Br J Nutr.* 62(01):77-89.
- Wodzinski, R.J., Ulla, H.J. (1996). Phytase. *Adv Appl Microbiol.* 42:263-302.
- Wong, J.H., Lau, T., Cai, N., Singh, J., Pedersen, J.F., Vensel, W.H., Hurkman, W.J., Wilson JD, Lemaux PG, Buchanan BB. (2009). Digestibility of protein and starch from sorghum (*Sorghum bicolor*) is linked to biochemical and structural features of grain endosperm. *J Cereal Sci.* 49:73-82.
- Wu, Y., Yuan, L., Guo, X., Holding, D. R., Messing, J. (2013). Mutation in the seed storage protein kafirin creates a high-value food trait in sorghum. *Nat Commun.*4(1):1–7.
- Zaefarian, F. Cowieson, A.J. Pontoppidan, K. Abdollahi, M.R. Ravindran, V. (2021). Trends in feed evaluation for poultry with emphasis on *in vitro* techniques. *Anim Nutr.* 7(2):268-281.

IX. ANEXOS

9.1 Técnica digestibilidad *in vitro* de proteína, materia seca y materia orgánica.

Es una técnica enzimática de dos pasos para simular la digestión a nivel del estómago (paso 1) e intestino delgado (pasos 2). Todas las muestras se molieron en un molino de laboratorio utilizando una malla de 1 mm.

Reactivos: pancreatina (porcina, Sigma P1750 4x USP), pepsina (porcina, 2500 units/g Sigma P7000), Na₂HPO₄ (3228-01 J.T. Baker), NaH₂PO₄ (3818-01 J.T. Baker), HCL (5620-02 J.T. Baker), agua destilada, acetona, alcohol.

Equipos: Daisy Incubator Ankom Technology, balanza analítica estufa, analizador de fibra, mufla, destilador de proteína.

PROCEDIMIENTO:

Se determinó la digestibilidad *in vitro* de la proteína de maíz, sorgo, pasta de soya y pasta de canola.

1. Primer paso

Se pesa 1 g de muestra \pm 0.4 mg en una bolsa filtrantes F57, se sella y se introduce en un frasco del equipo, Daisy Incubator Ankom Technology. En total se colocaron 4 muestras con sus 6 repeticiones cada una y 3 bolsas blanco por frasco. para cada bolsa filtrante se añade 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 en un agitador magnético y se ajusta el pH a 2.

A continuación, se añade 1 ml por cada bolsa filtrante de una solución de pepsina (porcina 2500 units/g Sigma P7000) en HCL 0.2 M, de concentración 10 mg/ml, se

mezcla muy bien el contenido. Esta solución es inestable, por lo que debe prepararse inmediatamente antes de utilizarse.

Para prevenir la contaminación microbiana se añaden 0.5 ml por cada bolsa filtrante de una solución de cloranfenicol (0.5 g/100 ml etanol).

Los frascos permanecen en el equipo Daisy Incubator durante 6 horas (primer periodo de incubación).

2. Segundo paso

Se adiciona por cada bolsa filtrante 10 ml de una solución fosfato (0.2 M; pH=6.8), Buffer B y 5 ml de una solución de NaOH 0.6 M, para neutralizar la solución y se ajusta el pH a 6.8

Se adiciona 1 ml de una solución de pancreatina (porcina Sigma P1750 4x USP) por cada bolsa filtrante, preparada en buffer B (50 mg/ml de pancreatina), esta solución debe prepararse inmediatamente antes de su usarse, pues es inestable, y debe estar perfectamente homogeneizada.

Se mezcla correctamente el contenido del frasco y se introducen de nuevo en el equipo Daisy Incubator a 39 °C durante 18 horas (segundo periodo de incubación).

Una vez que terminó la segunda incubación, las bolsas filtrantes se transfieren a un vaso de precipitado con agua destilada, enseguida se realizaron los lavados de las bolsas filtrantes en el analizador de fibra Ankom primero se hizo un lavado con 2 L de agua destilada y se aplicó agitación durante 5 minutos se desechó el agua y se hizo un segundo lavado de la misma manera con agua destilada.

Se repitió el procedimiento anterior de lavados, pero con alcohol de 96 ° y por último con acetona. Luego se llevaron las bolsas filtrantes a la campana de extracción una vez que se evaporo la acetona se secaron las bolsas en la estufa de aire forzado a 40° centígrados durante 48 horas.

Después se colocaron las bolsas filtrantes en un desecador se pesaron en la balanza analítica y se determinó la Digestibilidad *in vitro* de materia seca DIVMS.

Se calcinó en crisoles de porcelana un duplicado de cada muestra de materia prima en la mufla, después se pesó el crisol con las cenizas y se determinó Digestibilidad *in vitro* de materia orgánica DIVMO.

Se recupero el residuo de digestibilidad de las bolsas restantes (4 bolsas por materia prima) se mezcló el contenido y se determinó por duplicado el contenido de proteína cruda en el equipo Kjeldahl.

Cálculos

Digestibilidad *in vitro* de materia seca DIVMS

$$\% \text{ DIVMS} = ((\text{MS materia prima} - \text{MS no digerida}) / \text{MS materia prima}) * 100$$

Donde:

$$\text{MS materia prima} = (\text{peso muestra (g)} * \% \text{ MS}) / 100$$

MS no digerida = peso (g) del residuo seco de la muestra - peso del residuo seco del blanco.

Digestibilidad *in vitro* de materia orgánica DIVMO

$$\% \text{ DIVMO} = ((\text{MO materia prima} - \text{MO no digerida}) / \text{MO materia prima}) * 100$$

$$\text{MO materia prima} = \text{peso muestra (g)} * (\% \text{ MS} - \% \text{ cenizas}) / 100$$

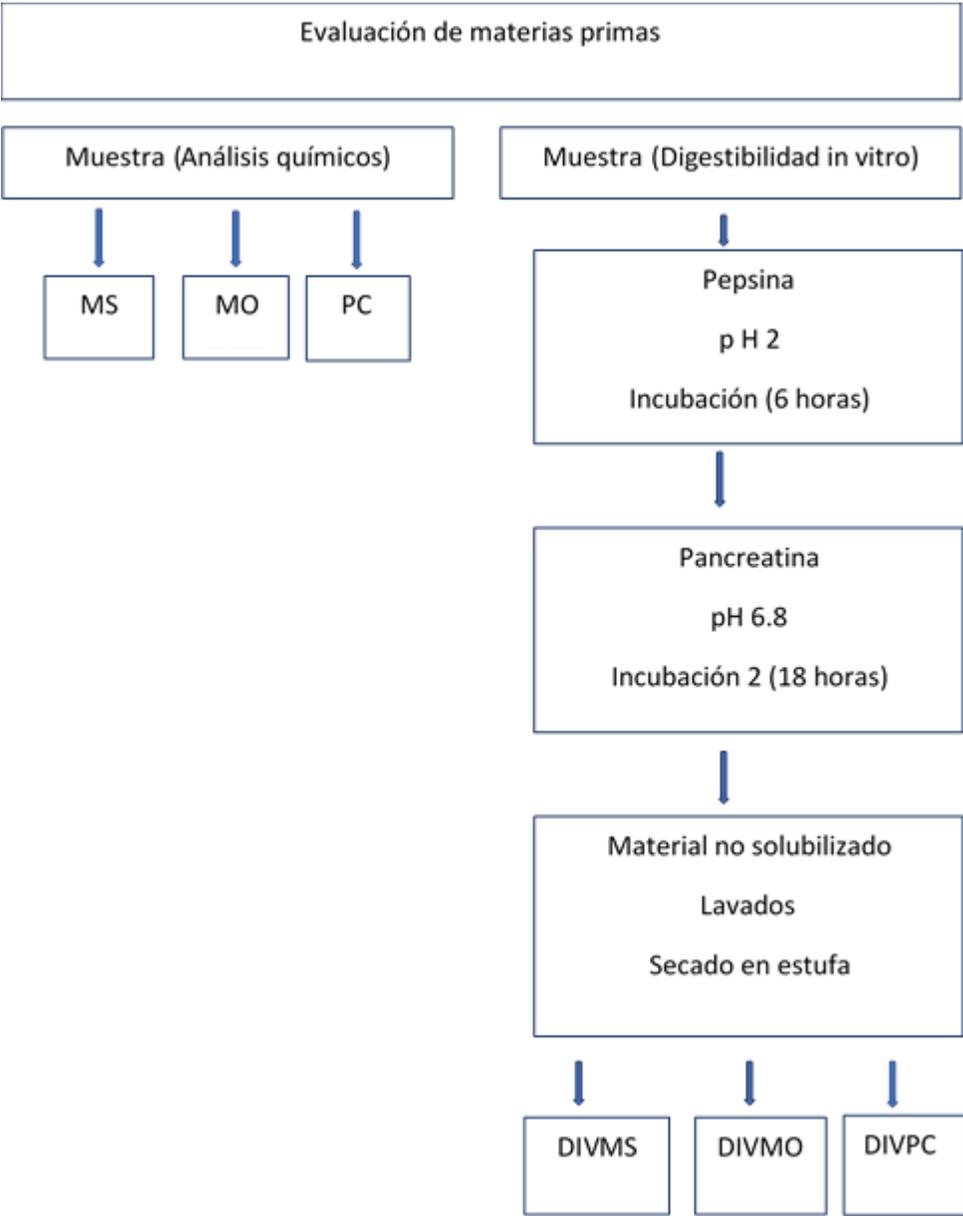
MO no digerido = peso del residuo de la muestra seca - peso del residuo de la muestra incinerada.

Digestibilidad *in vitro* de proteína cruda DIVPC

$$\% \text{ DIVPC} = (((\text{PC materia prima (g)} - \text{PC materia prima no digerida (g)}) / \text{PC materia prima}) * 100.$$

Nota: los valores de la fórmula anterior deben estar en base seca.

A continuación, se muestra un diagrama de la técnica de Digestibilidad *in vitro*



9.1.2 Determinación de ácido fítico.

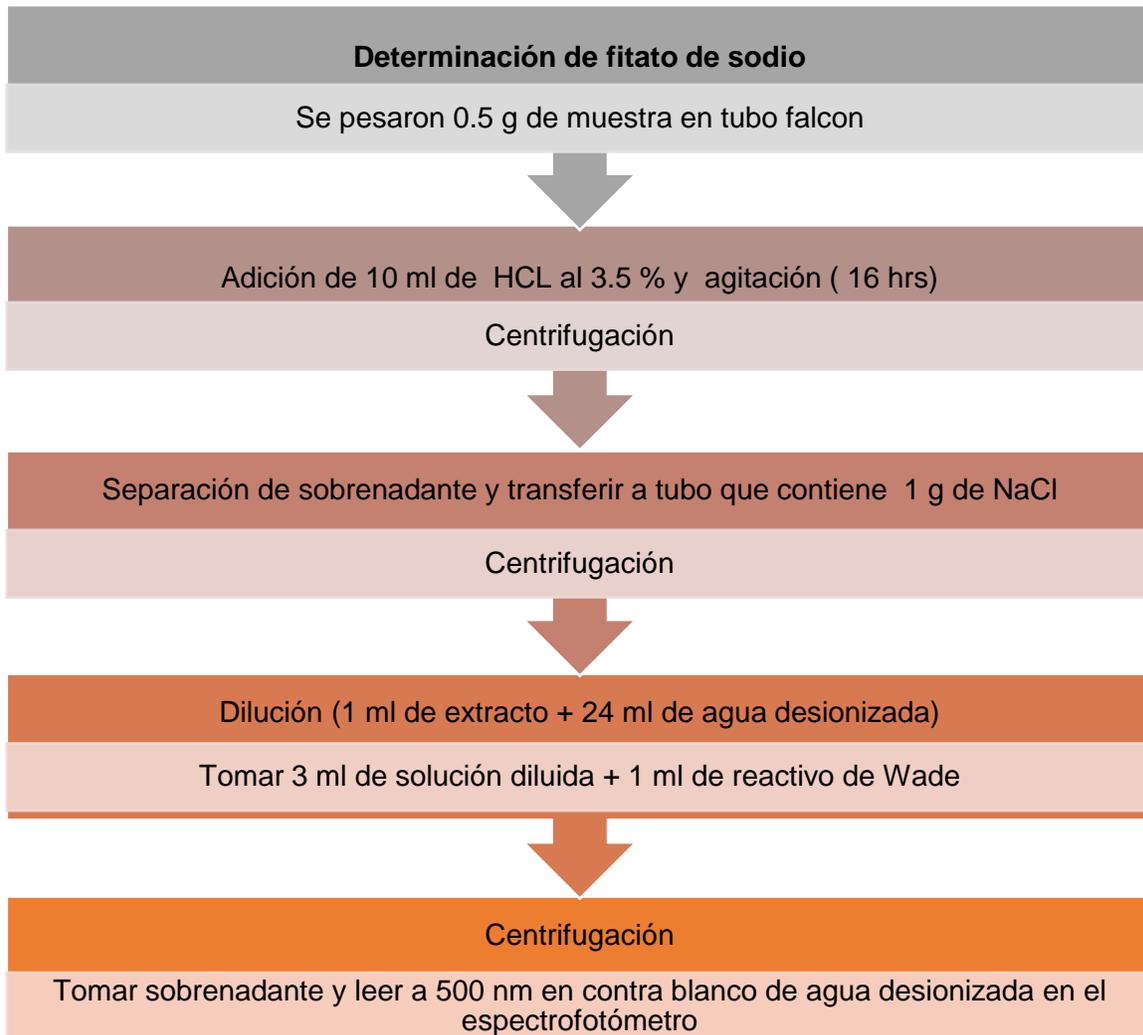
Material y Equipo

- Tubos falcón de 14 ml o tubos para centrifuga de polipropileno de 25 ml.
- Balanza analítica.
- Centrifuga.
- Agitador orbital shaker.
- Pipeta.
- Puntas para pipeta.
- Espectrofotómetro Génesys 10.

Reactivos

- HCl 3.5% en agua desionizada.
- NaCl cristal
- Reactivo de Wade: 0.03% de $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ + ácido sulfosalicílico 0.3%. se pesaron 30 mg de $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 300 mg de ácido sulfosalicílico y se aforo a 100 ml con agua desionizada, se transfirió a un frasco forrado de papel aluminio.

Enseguida se presenta un diagrama del procedimiento empleado para la determinación de fitato de sodio.

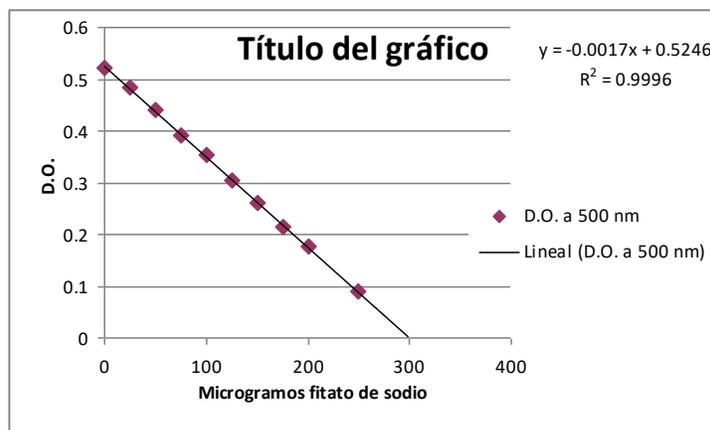


Una vez que se tienen las lecturas se procede a extrapolar las absorbancias con la curva estándar para obtener la concentración de ácido fítico en μg fitato de sodio.

Curva estándar

Se preparó una solución madre de fitato de sodio (Sigma, P-8810) a una concentración de 250 µg/ml con agua desionizada, de la cual se tomaron diferentes volúmenes, así como se muestra a continuación.

µg fitato de sodio	Microlitros sol. Estándar	Microlitros de Agua desionizada	ml de reactivo de Wade
0	0	3000	1
25	100	2900	1
50	200	2800	1
75	300	2700	1
100	400	2600	1
125	500	2500	1
150	600	2400	1
175	700	2300	1
200	800	2200	1
250	1000	2000	1
300	1200	1800	1



Con la ecuación de la curva se extrapolaron las absorbancias de las muestras para obtener la concentración de ácido fítico en μg fitato de sodio: $X = (Y - 0.5246) / (-0.0017)$. Luego para obtener los mg fitato de sodio/g de muestra se aplicó la siguiente fórmula:

$$\text{mg fitato de sodio/g muestra} = \frac{\mu\text{g fitato de sodio} \times 25 \times 10}{\text{g muestra} \times 3 \times 1000}$$

Donde:

25= Dilución de la muestra

10= ml de HCl iniciales

3=ml de solución diluida de muestra en la reacción

1000=conversión de μg a mg de fitato de sodio

9.1.3 Determinación de la actividad inhibitoria de tripsina

Material y Equipo

- Balanza analítica.
- Homogeneizador.
- Baño de temperatura controlada.
- Agitador.
- Centrifuga.
- Tubos de ensaye de 10 ml.
- Gradilla.
- Vortex.
- Espectrofotómetro.

Reactivos

- Buffer de TRIS: TRIS 0.05M conteniendo CaCl_2 0.02M, pH 8.2. Pesar 6.05 g de tris (hidroximetilaminometano) y 2.94 g de $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ disueltos en 900 ml de agua destilada. Ajustar el pH a 8.2 adicionando NaOH o HCl 1M y 0.1M. Posteriormente aforar a 1L con agua destilada. Guardar en refrigeración (máximo 1 mes) y checar el pH cada que se emplee.
- Solución de sustrato: Pesar 40 mg de BAPA o BAPNA (benzoi-DL-arginina-*p*-nitroanilida hidrocioruro) y disolver en 1 ml de dimetil sulfóxido y aforar a 100 ml con buffer de TRIS precalentado a 37°C.

Nota: A esta temperatura es estable por 4 horas. Por lo que hay que preparar lo necesario antes de iniciar la reacción. Con el tiempo va tomando una coloración amarillenta.

- Solución de tripsina: Pesar 4 mg de tripsina pancreática (Fagbemi et al., 2005) en 200 ml de HCl 0.001 M (20 µg tripsina/ml).

Nota: La solución dura aproximadamente 2 semanas a 4° C.

Extracción de la muestra

La muestra se muele a través de una malla de 0.50 mm. Cuando la muestra tiene una cantidad considerable de grasa se tiene que desgrasar (mayor a la de la semilla de soya).

1. Se pesó 1g en un tubo y se adicionaron 50 ml de NaOH 0.01N (pH 9.5-9.8). Ajustar con NaOH o HCl 1M o 0.1M.
2. Se dejó agitando la muestra durante 3 horas para obtener el extracto de muestra.
3. Se procedió a centrifugar el extracto a 3600 rpm/15 min a 20° C.

4. Se colectó el sobrenadante para ser diluido (en caso de ser necesario) a razón de que el extracto diluido tenga una actividad inhibitoria de la tripsina cerca del 50 % (40 – 60%).

$$\% \text{ inhibición de tripsina} = ((\text{Std} - \text{Br}) - (\text{Mtra} - \text{Bmtra})) * 100 / (\text{Std} - \text{Br})$$

Donde:

Std = Absorbancia del estándar de tripsina

Br = Absorbancia del blanco de reactivo

Mtra = Absorbancia de la muestra problema

Bmtra = Absorbancia del blanco de muestra

Recomendaciones:

MATERIAL VEGETAL	DILUCIÓN (D)*
Semilla de soya	60
Semilla de soya extrudida	4
Pasta de soya	2.5 a 4
Pasta de ajonjolí	Sin diluir
Pasta de canola	Sin diluir, no es fácilmente detectable el inhibidor

* La dilución se expresa en relación a los ml de extracto con respecto al volumen total diluido: Ejemplo: D = 60 corresponde a 1 ml de extracto de la muestra diluido en 59 ml de agua destilada, dando un volumen total de 60 ml, por lo tanto, D = 1/60.

Procedimiento

Determinar la actividad de inhibición de la tripsina.

Se colocar los tubos de ensaye de 10 ml perfectamente rotulados en una gradilla dentro de un baño maría a 37° C, siguiendo la siguiente metodología.

	Blanco reactivo	Estándar Tripsina	Blanco de muestra	Muestra
Agua destilada (ml)	0.5	0.5	--	--
Muestra (ml)	--	--	0.5	0.5
BAPA a 37°C (ml)	1.25	1.25	1.25	1.25
Agitar en vortex y mantener en incubación por 10 min a 37°C				
Tripsina a 37°C (ml)	--	0.5	--	0.5
Agitar en vortex e incubar 10 min a 37°C				
Ácido acético 30% (ml)	0.25	0.25	0.25	0.25
Tripsina a 37°C (ml)	0.5	--	0.5	--
Agitar en vortex y centrifugar				

1. Después de sacar los tubos de baño maría se centrifugaron a 1200 rpm durante 12 min.
2. Se realizó la lectura a 385 nm contra un blanco de agua.

Cálculos:

$$AIT = (2.632 * D * ((Std - Br) - (Mtra - Bmtra)) / \text{Peso de muestra}$$

Donde:

AIT = Actividad inhibitoria de tripsina, mg de tripsina pura inhibida/g muestra

9.1.4 Determinación de taninos condensados

Material y Equipo

- Tubos falcón de 14 ml o tubos para centrifuga de polipropileno de 25 ml.
- Balanza analítica.
- Agitador orbital shaker.
- Centrifuga.
- Papel filtro cuantitativo
- Pipeta multicanal.
- Puntas para pipeta.
- Microplacas.
- Lector de microplacas Spectra MAX 250.

Reactivos

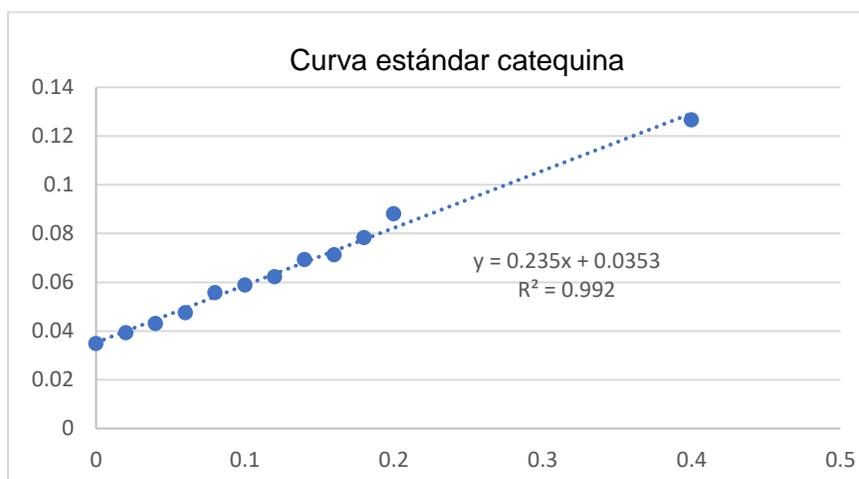
- Catequina.
- HCl.
- Vainillina.
- Metanol.

Curva de calibración

Preparación de la solución madre: pesar 0.010 g de catequina (Sigma, C1251) y aforar a 10 ml con metanol.

Se tomaron diferentes volúmenes, así como se muestra a continuación para la curva de calibración.

Mg/mL	Microlitros sol. Estándar	Microlitros de Metanol
0.40	1000	1500
0.20	500	2000
0.18	450	2050
0.16	400	2100
0.14	350	2150
0.12	300	2200
0.10	250	2250
0.08	200	2300
0.06	150	2350
0.04	100	2400
0.02	50	2450



Preparación de soluciones

- HCl 8% (J.T. Baker, 5620-02).
21.6 ml de HCL en 100 ml de metanol
- HCl 4% (J.T. Baker, 5620-02).
10.8 ml de HCL en 100 ml de metanol
- Vainillina (Sigma, 12352) 1 %.
0.5 g en 50 ml de metanol (aforar)

Preparación de microplaca de la curva estándar

Concentraciones:

1. Transferir 40 μ l de cada dilución por triplicado
2. Adicionar 200 μ l de solución 1:1 HCl 8% vainillina (adicionar con cuidado)

muestra blanco:

3. Transferir 40 μ l de metanol
4. Adicionar 200 μ l de solución HCl 4%
5. Leer absorbancia a 492 nm en lector de microplacas

Preparación del extracto de muestra:

Pesar 0.2 g de muestra de sorgo en un tubo, adicionar 10 ml de metanol, poner en agitación en el orbital shaker durante 20 minutos en el nivel 7, después centrifugar a 6000 rpm a temperatura ambiente, una vez centrifugado el extracto metanólico filtrar utilizando papel filtro cuantitativo.

Preparación de microplaca

Blanco de muestra:

1. Transferir 40 µl de extracto de muestra por triplicado
2. Adicionar 200 µl de solución HCl 4%

Muestra:

3. Transferir 40 µl de extracto metanólico por triplicado
4. Adicionar 200 µl de solución 1:1 HCl 8% vainillina (adicionar con cuidado)
5. Leer absorbancia a 492 nm en lector de microplacas

Cálculos:

Corrección de la Absorbancia= (M-BC)-(BM-BC)

Donde:

M= Absorbancia Muestra

BC= Absorbancia Blanco de calibración

BM= Absorbancia Blanco de muestra

Una vez que se tienen los valores corregidos se procede a extrapolar las absorbancias con la curva estándar para obtener la concentración de mg de catequina/ml.

Mg catequina/g= (mg catequina/ml) / (peso de muestra) x ml de metanol usados en la extracción.