

**UNIVERSIDAD DE LA REPUBLICA
FACULTAD DE VETERINARIA**

**DIGESTIBILIDAD, PARÁMETROS FECALES Y METABÓLICOS EN
PERROS ALIMENTADOS CON DOS ALIMENTOS COMERCIALES DE
DIFERENTE PRECIO DE VENTA SUMINISTRADOS EN DOS FRECUENCIAS
DIARIAS**

Por

Sebastián BRAMBILLASCA ALZA
Frederick PURTSCHER DAVYT



TESIS DE GRADO presentado como
uno de los requisitos para obtener el
título de Doctor en Ciencias
Veterinarias (Orientación Higiene,
Inspección, Control y Tecnología de
los Alimentos)

MODALIDAD Ensayo Experimental

MONTEVIDEO
URUGUAY
2007

079 TG
Digestibilidad,
Brambillasca Alza, Sebastián



TESIS DE GRADO aprobada por:

Presidente de Mesa:

Dr. Alejandro Bielli

Segundo Miembro (Tutor):


Dra. Cecilia Cajarville

Tercer Miembro:


Ing. Agr. Alejandro Mendoza

Co Tutores:


Dr. José Luis Repetto

Dr. Alejandro Britos

Fecha:

___ / ___ / ___

Autores:


Sebastián Brambillasca


Frederick Purtscher

AGRADECIMIENTOS

Quisiéramos agradecer a todas aquellas personas que de una forma u otra hicieron posible la realización de este trabajo, y que colaboraron para que pudiéramos finalizar esta carrera.

A nuestras familias, por el apoyo brindado durante todos estos años.

A nuestros compañeros de carrera por todos los momentos compartidos a lo largo de todo este tiempo.

A Cecilia y Joselo, por su apoyo, colaboración y enseñanza a lo largo de estos años, por permitirnos superarnos y dar a una cantidad de jóvenes un espacio de trabajo y aprendizaje, del que nos sentimos parte desde el primer día.

A Ale, Martín, Analía, Sancho, Daniel y Milton.

A Roja, Azul, Naranjita, Blanquita, Verde, Negro, Rosado y Simón, trabajadores incansables de esta casa de estudios.

A todos los que fueron, son y serán tesisistas del Dpto. de Nutrición Animal.

Este trabajo está dedicado a Tanya y Leticia.

TABLA DE CONTENIDO

PÁGINA DE APROBACIÓN.....	II
AGRADECIMIENTOS.....	III
LISTA DE TABLAS Y FIGURAS.....	VI
LISTA DE ABREVIATURAS.....	VII
1. <u>RESUMEN</u>.....	1
2. <u>SUMMARY</u>.....	2
3. <u>REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA</u>.....	3
3.1. CARACTERÍSTICAS DE LOS ALIMENTOS COMERCIALES PARA PERROS.....	4
3.2. DIGESTIBILIDAD DE LOS ALIMENTOS COMERCIALES.....	6
3.3. PRINCIPALES FACTORES QUE AFECTAN LA DIGESTIBILIDAD....	9
3.3.1. <u>Factores vinculados a la fibra</u>	9
3.3.2. <u>Factores vinculados a la proteína</u>	9
3.3.3. <u>Factores vinculados a los almidones</u>	11
3.3.4. <u>Factores vinculados a los lípidos</u>	12
3.3.5. <u>Factores vinculados al animal</u>	12
3.3.6. <u>Factores vinculados al nivel y frecuencia de alimentación</u>	13
3.4. INFLUENCIA DE LOS ALIMENTOS SOBRE LA CALIDAD DE LAS HECES.....	14
3.5. INFLUENCIA DE LA ALIMENTACIÓN SOBRE LOS NIVELES DE GLUCOSA Y UREA EN SANGRE.....	16
4. <u>HIPÓTESIS</u>.....	19
5. <u>OBJETIVOS</u>.....	19
5.1. OBJETIVO GENERAL.....	19
5.2. OBJETIVOS PARTICULARES.....	19
6. <u>MATERIALES Y MÉTODOS</u>.....	20
6.1. DISEÑO EXPERIMENTAL.....	20
6.2. ALIMENTACIÓN.....	20
6.3. DETERMINACIONES.....	21
6.3.1. <u>Digestibilidad aparente <i>in vivo</i></u>	21
6.3.2. <u>Análisis químicos</u>	22

6.3.3. <u>pH fecal</u>	22
6.3.4. <u>Consistencia fecal</u>	22
6.3.5. <u>Parámetros plasmáticos</u>	22
6.4. ANÁLISIS ESTADÍSTICOS.....	23
7. <u>RESULTADOS</u>	24
7.1 ANÁLISIS QUÍMICO DE LOS ALIMENTOS COMERCIALES.....	24
7.2 DIGESTIBILIDAD.....	24
7.3. PARÁMETROS FECALES.....	25
7.3 PARÁMETROS SANGUÍNEOS.....	26
8. <u>DISCUSIÓN</u>	28
8.1. COMPOSICIÓN QUÍMICA.....	28
8.2. DIGESTIBILIDAD.....	28
8.3. PARÁMETROS FECALES.....	30
8.4. GLUCOSA Y UREA EN PLASMA.....	32
9. <u>CONCLUSIONES</u>	34
10. <u>BIBLIOGRAFÍA</u>	35

LISTA DE TABLAS Y FIGURAS



Tabla I. Datos de digestibilidad <i>in vivo</i> en distintas publicaciones.....	8
Tabla II: Composición química declarada de los alimentos comerciales.....	21
Tabla III. Composición química analizada de los alimentos comerciales y desvío porcentual respecto a la composición química declarada.....	24
Tabla IV. Digestibilidad <i>in vivo</i> (%) en perros alimentados con alimentos comerciales suministrados 1 (A1 y B1) y 3 veces por día (A3 y B3).....	25
Tabla V. Cantidad diaria de heces frescas, porcentaje de MS en las heces, consistencia fecal y pH fecal en perros alimentados con alimentos comerciales suministrados 1 (A1 y B1) y 3 veces por día (A3 y B3).....	26
Tabla VI. Concentraciones medias de glucosa y urea plasmáticas en perros alimentados con alimentos comerciales suministrados una (A1 y B1) y tres veces (A3 y B3) en el día.....	26
Figura 1. Esquema de cada período experimental.....	20
Figura 2. Porcentaje de digestibilidad aparente de los distintos tratamientos..	25
Figura 3. Evolución de las concentraciones de glucosa plasmática en perros alimentados con alimentos comerciales suministrados una (A1 y B1) y tres veces (A3 y B3) en el día.....	27
Figura 4. Evolución de las concentraciones de urea plasmática en perros alimentados con alimentos comerciales suministrados una (A1 y B1) y tres veces (A3 y B3) en el día.....	27

LISTA DE ABREVIATURAS

AA: aminoácidos
AGV: ácidos grasos volátiles
A 1: alimento A una vez por día.
A 3: alimento A tres veces por día
B 1: alimento B una vez por día
B 3: alimento B tres veces por día
dEE: digestibilidad del extracto etéreo
dELN: digestibilidad del extractivo libre de nitrógeno
dFC: digestibilidad de la fibra cruda
dMO: digestibilidad de la materia orgánica
dMS: digestibilidad de la materia seca
dPB: digestibilidad de la proteína bruta
EB: energía bruta
EE: extracto etéreo
ELN: extractivo libre de nitrógeno
EM: energía metabolizable
FC: fibra cruda
kg PV^{0,75}: kilogramos de peso metabólico
N: nitrógeno
MO: materia orgánica
MS: materia seca
PB: proteína bruta
PV: peso vivo
RER: requerimiento energético en reposo
VB: valor biológico

1. RESUMEN

Se estudió el efecto del suministro de dos alimentos comerciales y dos frecuencias de alimentación sobre la digestibilidad *in vivo*, los parámetros fecales y la evolución en el tiempo de los niveles plasmáticos de glucosa y urea en perros. Fueron utilizados ocho perros, que recibieron igual cantidad diaria (42,9 g MS/kg PV^{0,75}) de dos alimentos comerciales (A y B) suministrados una o tres veces al día, en cuatro períodos que consistieron en 5 días de adaptación seguidos de 3 días de recolección de muestras de heces, más un día de recolección de muestras de sangre, con un diseño de dos cuadrados latinos simultáneos (4x4). Inmediatamente después de la recolección de las heces se midió el pH y la consistencia fecal. Se determinó la digestibilidad de Materia Seca (MS), Materia Orgánica (MO), Proteína Bruta (PB), Extracto Etéreo (EE), Extractivo Libre de Nitrógeno (ELN) y Fibra Cruda (FC). La extracción de sangre se realizó de manera seriada cada 15 minutos, a partir de 30 minutos previos a la ingesta hasta 60 minutos luego de ésta, y fueron determinadas las concentraciones plasmáticas de glucosa y urea. Para los parámetros fecales y digestibilidad de los nutrientes se analizó el efecto del alimento, la frecuencia de alimentación y la interacción entre ambos mediante contrastes ortogonales. Las concentraciones de glucosa y urea en plasma fueron comparadas entre tratamientos y tiempo como medidas repetidas utilizando un modelo mixto. El alimento A presentó mayor digestibilidad de MS, MO, PB, EE y ELN, con menor producción diaria de heces, mayor consistencia y menor pH fecal que el alimento B ($P < 0,001$). No se observaron diferencias en la evolución de glicemia y urea plasmática al fraccionar el suministro de alimentos. Para ninguno de los parámetros estudiados el efecto de la frecuencia de suministro ni la interacción alimento x frecuencia fueron significativos.

2. SUMMARY

The effect of two commercial dog food and two feeding frequencies on *in vivo* digestibility, fecal characteristics, and plasmatic levels of glucose and urea in dogs was studied. Eight dogs were fed an equal quantity (42,9 g DM/kg BW^{0.75}) of two commercial dog food (A & B), offered once or three times daily, in four experimental periods that consisted in a 5-day diet adaptation phase followed by 3-day faeces collection, and 1 more day for blood sampling, in a 4x4 latin square design. Fecal pH and consistency were measured immediately after sampling. Digestibility of Dry Matter (DM), Organic Matter (OM), Crude Protein (CP), Ether Extract (EE), Nitrogen Free Extract (NFE) and Crude Fiber (CF) were determined. Blood samples were taken every 15 minutes, from 30 minutes before to 60 minutes after the meal, and plasmatic glucose and urea levels were measured. Orthogonal contrasts were used to test the effect of food, feeding frequency and the interaction between them on fecal characteristics and digestibility. Plasmatic glucose and urea levels were analyzed as repeated measures using a mixed model. Digestibilities of DM, OM, CP, EE and NFE and fecal consistency were higher, and daily fecal excretion and fecal pH were lower when dogs were fed food A ($P < 0,001$). The feeding scheme had no effect in the plasmatic glucose and urea responses. Neither the feeding frequency nor the food \times frequency interactions were significant for the parameters studied.

3. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA



En Uruguay y en el mundo la venta y consumo de alimentos comerciales para mascotas ha aumentado significativamente en los últimos años. Según Boixeda de Miquel (2000) desde 1993 el mercado mundial ha crecido un 14% en volumen y un 22% en valor, siendo los crecimientos más importantes en Europa del este de 425 %, América Latina 120% y Japón de 102 %. Los alimentos para perros representan el 51 % (72,5% seco, 27,5% húmedo), para gatos 38 % (57,9% húmedo, 42,1% seco) y los snack o premios representan el 11% de las ventas. La venta de alimentos para perros y gatos en la Unión Europea en 2005 superaron los 13.000 millones de euros (AACUE, 2007). En 2004 en E.E.U.U. las ventas de estos productos superaron los 14.000 millones de dólares, esperándose que en 2008 las ventas superen los 17.000 millones de dólares (Barnes, 2005).

En 2002 los volúmenes de importación en Uruguay de alimentos para caninos alcanzaron 8.225 toneladas, mientras que en el mismo año, la importación de alimentos para gatos superó las 1.350 toneladas, siendo los principales países de origen de estos productos Argentina, Brasil, E.E.U.U. y Canadá (División de Protección de Alimentos Vegetales, Dirección General de Servicios Agrícolas, Ministerio de Ganadería, Agricultura y Pesca, 2003). En el mercado nacional no están cuantificados los volúmenes de consumo ni de producción de alimentos comerciales para mascotas, pero existe una amplia variedad de productos, pudiendo encontrarse alimentos secos, húmedos, y semihúmedos, nacionales e importados, desde productos de venta exclusiva en veterinarias, hasta alimentos para perros de venta en el circuito informal. La gran oferta y la variada calidad, las campañas publicitarias y la falta de información oficial, llevan a que el consumidor, al momento de la compra se guíe, según Quincke *et al.* (2002) por tres aspectos: el consejo del veterinario, el precio y la publicidad.

La alimentación de los animales de compañía plantea nuevos desafíos en la nutrición animal, debido a que no tiene un fin productivo como ganancia de peso, producción de leche, huevos o un mejor rendimiento deportivo. El desarrollo de los alimentos comerciales balanceados facilita la alimentación debido a que estos son elaborados para satisfacer todas las necesidades nutricionales del animal con un único alimento, por lo que la nutrición de mascotas está abocada a la mejora del aprovechamiento del alimento (estudios de digestibilidad) y de la interacción hombre – animal, tratando de reducir el número de deposiciones por día, mejorar las características fecales (consistencia, humedad y olor) y evitar comportamientos indeseables (mendigar). También se busca con los alimentos comerciales y planes de alimentación, mejorar el estado de salud del animal, ya sea previniendo enfermedades (obesidad, urolitiasis en gatos, dilatación – vólvulo gástrico, entre otras) o tratando y atenuando enfermedades ya presentes (diabetes, enfermedad renal).

La alimentación con cantidades controladas es el método de elección en la mayoría de situaciones. Diariamente se ofrece una o más comidas predeterminadas (frecuencia de suministro) para cumplir con las necesidades

nutricionales y calóricas. Esto permite al propietario seguir adecuadamente el consumo de alimento y observar de forma inmediata cualquier cambio en la ingesta o conducta alimentaria. También permite controlar el crecimiento y peso de su mascota para poder ajustar la dieta en caso de ser necesario. Posee como desventaja que requiere más tiempo y conocimiento por parte del propietario, aunque la mayoría de los alimentos comerciales poseen información que orienta sobre la cantidad de alimento a ofrecer (Case *et al.*, 1997; Thatcher *et al.*, 2000)

Thatcher *et al.* (2000) plantean que la mayoría de los perros adultos normales tienen apetito y capacidad física suficiente para consumir su requerimiento diario de alimento en un sólo período de 10 minutos, pero la alimentación frecuente, por lo menos 3 veces por día, es deseable en animales que requieran una ingesta elevada, como cachorros, perros que realizan trabajos, perras en el último mes de gestación y durante la lactancia. Los animales en estas etapas de la vida pueden requerir 1,5 a 4 veces más de alimento por unidad de peso corporal que los animales en mantenimiento y una alimentación menos frecuente podría limitar la ingesta total de alimento. La alimentación frecuente de raciones pequeñas beneficia a los animales con disfunción de la ingestión, digestión, la absorción o la utilización de nutrientes (Thatcher *et al.*, 2000). Davenport *et al.* (2000) recomiendan la alimentación con dos o tres raciones pequeñas diarias en animales con riesgo de padecer dilatación –vólvulo gástrico. Además, el alimento administrado dos o tres veces en el día reduce el hambre entre las comidas y minimiza los problemas de conducta asociados con el alimento, como robar o mendigar comida.

La digestión de los alimentos depende de la producción de enzimas y de la velocidad de flujo (tasa de pasaje) de la digesta por el tubo gastrointestinal. La tasa de pasaje determina el contacto entre enzimas y el alimento, y entre nutrientes y superficies absorbentes. El nivel de consumo y el fraccionamiento de la ración influyen sobre la digestibilidad de los nutrientes en monogástricos. Al aumentar la cantidad de alimento consumido por un animal, también aumenta su velocidad de paso sobre el tracto digestivo, disminuyendo por lo tanto, el tiempo disponible para la acción enzimática, lo que puede ocasionar una disminución de la digestibilidad (McDonald *et al.*, 2006). Una mayor frecuencia de alimentación, con porciones más pequeñas, permite un flujo de la digesta por el tubo gastrointestinal más continuo, lo que se relaciona positivamente con la digestibilidad de los nutrientes (de Haer y de Vries, 1993).

3.1. CARACTERÍSTICAS DE LOS ALIMENTOS COMERCIALES PARA PERROS

Los alimentos comerciales son clasificados por diferentes organismos reguladores como el NRC (*Nacional Research Council*) o la AAFCO (*Association of American Feed Control Officials*) según su porcentaje de humedad. El porcentaje de humedad para los alimentos **húmedos** representa entre 74 y 78%, para los **semihúmedos** es de 25 a 30% y para los **secos** es de 3 a 12%, siendo este último grupo el de mayor volumen de producción. También se los clasifica según su adecuación nutritiva. En esta categoría se

incluyen: **Alimento Completo**, alimento que aporta la nutrición adecuada destinada a animales (no al hombre). Por su fórmula específica, está preparado para ser consumido como única ración y ser capaz de mantener con vida y/o promover la producción sin que sea necesario proporcionar ninguna sustancia adicional, excepto agua. Se pueden diferenciar según la etapa de vida a que esta destinado, ya sea crecimiento, mantenimiento, lactación/gestación (AAFCO, 2000). En la legislación uruguaya el Decreto 328/93 define Alimento balanceado como aquel que por sí solo llena todos los requerimientos nutricionales, por lo que estos dos serán tomados como sinónimos. **Alimento Complementario** es aquel que por su composición, no es suficiente para asegurar la ración diaria a menos que se emplee en combinación con otro alimento. Dentro de esta categoría se incluyen los complementos, snacks y golosinas (AAFCO, 2000).

Además de las clasificaciones anteriores los fabricantes de alimentos utilizan otras desde un punto de vista comercial, que por el momento no están reguladas o aprobadas en una legislación específica, aunque según Luggens (2005) abarcan conceptos bien definidos y consensuados por estos. Estas categorías son: A) alimentos genéricos, estándar o marcas de almacén; B) alimentos Premium y C) alimentos Superpremium (Luggens, 2005). La referencia más antigua que menciona esta clasificación proviene de NRC (1985), donde señala que alimentos Premium son aquellos alimentos húmedos que contienen altas proporciones de carne o subproductos cárnicos; hoy en día el término Premium se aplica a los alimentos secos, semihúmedos y húmedos.

Los alimentos **genéricos** según Crane *et al.* (2000) y la *European Pet Food Industry Federation* (FEDIAF, 2005) se caracterizan por ser alimentos que utilizan ingredientes variables y de bajo costo, que se formulan a través de recomendaciones y tablas de requerimientos nutricionales y de contenidos de nutrientes de materias primas, de organismos como AAFCO y NRC. La digestibilidad de la Materia Seca (dMS) se aproxima al 72%, con producción de heces voluminosas (Castrillo, 2004). Su canal de venta son agropecuarias, supermercados o informal.

Los alimentos **Premium y Superpremium** son elaborados con ingredientes de mayor costo y mejor calidad, su fórmula es fija y su composición de nutrientes, en muchos casos, esta comprobada por pruebas de alimentación. Son alimentos de elevada palatabilidad, y la dMS es mayor al 78%, con producción de heces firmes y escasas. Su canal de venta en general son tiendas especializadas y veterinarias (Crane *et al.*, 2000; Luggens, 2005).

En varios países existe una regulación específica de alimentos para animales de compañía. En EEUU desde 1990 y Brasil desde el 2003 se utilizan las recomendaciones de la AAFCO. Canadá posee una normativa propia con un programa de certificación voluntaria del producto (CVMA, 1999). En Uruguay no existe una normativa específica. La habilitación de los alimentos comerciales para animales para su salida al mercado es realizada por el Ministerio de Ganadería Agricultura y Pesca (Decreto 328/93), a través de la División de Protección de Alimentos Vegetales de la Dirección General de

Servicios Agrícolas, basándose en análisis químicos estandarizados de los alimentos para determinar los niveles de nutrientes que los componen.

Antes de 1990 los niveles mínimos de nutrientes en alimentos balanceados para mascotas se fundamentaban en las recomendaciones del NRC (1985, 1986). En 1990 y 1991 la AAFCO estableció los perfiles para perros y gatos basados en los ingredientes que se usan habitualmente en la elaboración de raciones (Roudebush *et al.*, 2000). Los perfiles de la AAFCO difieren de las recomendaciones previas del NRC, ya que éstos últimos derivan de los datos obtenidos con alimentos purificados y suponen una disponibilidad del 100 %, no suponiendo interacciones con otros nutrientes y alteraciones por los procesos tecnológicos de elaboración (NRC,1985).

Según AAFCO (2002), alimentos comerciales para perros adultos con 3,5 kcal de EM/g MS deben tener una concentración mínima de nutrientes de 18% de proteína, 5% de lípidos, 0,6% de Ca y 0,5% de P. Para la *Canadian Veterinary Medical Association* (CVMA) los requerimientos mínimos para perros adultos consumiendo un alimento con una densidad energética de 3,5 kcal EM/g MS son de 22% de proteína, 5% de lípidos, 1,1% de Ca y 0,9% de P. En Brasil el Ministerio de Agricultura, Pecuaria y Abastecimiento (MAPA) establece las concentraciones de nutrientes que deben poseer distintas categorías de alimentos comerciales, recomendando que un alimento seco para el mantenimiento de perros adultos, presente una humedad máxima de 12%, un mínimo de 16% de proteína bruta (PB), 7% de extracto etéreo (EE) ácido y concentraciones máximas de fibra cruda (FC) y cenizas de 6% y 12% respectivamente en base húmeda (Roudebush *et al.*, 2000).

Hodgkinson *et al.* (2004) evaluaron 33 alimentos comerciales secos para perros disponibles en el mercado chileno, comparando los resultados de los análisis químicos con los valores recomendados por la AAFCO; solamente 4 (12%) de los 33 alimentos evaluados contenían niveles adecuados de proteínas, aminoácidos (AA) esenciales, grasas (incluyendo ácido linoleico) y minerales. Sin embargo, Krogdahl *et al.* (2004) al comparar 6 alimentos comerciales de elevado precio de venta contra 6 de bajo precio (50% menos del valor del los alimentos de alto precio) observaron que la composición química para ambos grupos fue similar a la declarada en su etiqueta. Lo autores no observaron relación entre categoría de precio y nivel de nutrientes, excepto que los alimentos de bajo costo presentaban una tendencia a ser menos variables entre sí en su composición química.

3.2. DIGESTIBILIDAD DE LOS ALIMENTOS COMERCIALES

Si bien el valor de los alimentos para aportar nutrientes puede determinarse mediante análisis químicos, el valor real para los animales solo puede conocerse después de tener en cuenta las pérdidas producidas durante la digestión, absorción y metabolismo (Mc Donald *et al.*, 2006). Para Case *et al.* (1997) y Jonderville y Gálvez (1995) de poco sirve la información de la composición química de un alimento si se desconoce su digestibilidad. Según Crane *et al.* (2000), los estudios de digestibilidad aparente son utilizados como

una medida de calidad. Un alimento de alta digestibilidad da como resultado una mayor cantidad de nutrientes disponibles para la absorción intestinal, lo que lleva a una menor cantidad necesaria de alimento para satisfacer los requerimientos energéticos y nutritivos del animal, reduciendo los costos de alimentación.

Debido a esto, distintos organismos plantean pero no exigen, la necesidad de realizar pruebas en animales para validar sus fórmulas. Estas pruebas pueden ser de alimentación o de digestibilidad. La AAFCO (2002) plantea un protocolo de evaluación y validación de alimentos comerciales para perros en etapa de mantenimiento alimentando un número mínimo de 8 animales, por un período mínimo de 26 semanas. Se evalúa cualquier señal clínica o patología que implique deficiencia o exceso de nutrientes, cambios en el peso vivo (PV), o cambios en los niveles sanguíneos de hemoglobina, albúmina y hematocrito. Si estas variables no cumplen con los límites establecidos, el alimento falla la prueba. Este protocolo ha sido adoptado en la normativa chilena (NCh 2546.Of2001) según lo expresado por Hodgkinson *et al.* (2004).

Los protocolos recomendados por AAFCO y CVMA para el diseño de ensayos de digestibilidad en perros y gatos, recomiendan un período de adaptación de 5 días, seguido de 5 días de recolección de heces para ambas especies. No obstante, otros autores sugieren que en perros 3 días de adaptación, seguido de 4 días de recolección de muestras son suficientes para determinar la digestibilidad de los nutrientes en perros (Nott *et al.*, 1994).

En ninguna normativa están establecidos los coeficientes de digestibilidad mínimos para cada nutriente, pero distintos autores coinciden en recomendar a los propietarios seleccionar alimentos que tengan digestibilidades iguales o superiores al 80% de la MS y rechazar cualquier alimento cuya digestibilidad de la materia seca sea menor al 75% (Lewis *et al.*, 1987; Case *et al.*, 1997). El NRC (1985) recomendaba para la PB y EE ácido y extractivo libre de nitrógeno (ELN), coeficientes de digestibilidad de 80, 90, y 85% respectivamente. En el protocolo de certificación de alimentos para mascotas de la CVMA (1999) se recomiendan valores mínimos de digestibilidad para perros y gatos en distintas etapas de la vida. En dicho protocolo, las digestibilidades mínimas recomendadas para alimentos enlatados para perros y gatos son de 80% para MS, PB, grasa y energía, y 30% para la digestibilidad de las cenizas. En el caso de alimentos comerciales secos o semihúmedos para perros y gatos, las digestibilidades mínimas recomendadas son de 70% para MS, PB, grasa y energía, y 30% para la digestibilidad de las cenizas.

En la Tabla I se presentan resultados de ensayos de digestibilidad *in vivo* de diferentes autores. Puede observarse que, si bien los resultados son variables, el valor de digestibilidad de MS (dMS) se encuentra en el entorno de 80%. Las digestibilidades de la PB (dPB) y del ELN (dELN) presentan una gran variabilidad, pero su valor, en general, es superior al 80%. En el caso de la digestibilidad del EE (dEE) su valor es superior al 90%.

Tabla I. Datos de digestibilidad *in vivo* en distintas publicaciones

Referencia	Nota	dMS	dMO	dPB	dEE	dELN
Carciofi <i>et al.</i> , 2006 ¹	SBM	81,1	86,3	86,3	92,1	89,2
	HCH	82,8	90,0	85,9	91,9	93,5
	HVP	83,7	88,8	84,8	91,7	92,5
	GM	82,4	89,2	88,1	91,8	91,6
Swanson <i>et al.</i> , 2004 ²	Dieta animal (gerontes)	80,1	84,0	72,3	93,6	---
	Dieta animal (cachorros)	78,9	82,8	74,5	94,0	---
	Dieta vegetal (gerontes)	76,8	79,3	80,8	87,5	---
	Dieta vegetal (cachorros)	76,8	79,9	81,2	87,9	---
Zentek <i>et al.</i> , 2004 ³	Alimento seco (pollo)	86,7	---	86,7	96,0	78,8
	Alimento seco (carne)	79,1	---	79,1	95,9	77,9
	Alimento seco estándar	79,3	---	79,3	93,5	90,0
Hendriks <i>et al.</i> , 2002 ⁴	Alimento comercial seco	86,8	85,4	85,4	---	---
Castrillo <i>et al.</i> , 2001 ⁵	Media	---	85,4	85,1	90,3	87,2
	Rango	---	78,3 – 89,9	71,0 – 92,0	80,9 – 95,7	80,1 – 93,5
Brown, 1997 ⁶	Certificados	82,7	---	87,0	96,3	---
	No certificados	86,3	---	85,4	96,6	---
Kendall <i>et al.</i> , 1982 ⁷	Medias	---	---	87,0	92,0	70,0

¹: digestibilidad de alimentos comerciales con diferentes fuentes proteicas, SBM: poroto de soja; HCH: harina de carne y hueso; HVP: harina de vísceras de pollo; GM: gluten meal. ²: digestibilidad en perros gerontes y cachorros; dieta animal: formulación basada en ingredientes de origen animal; dieta vegetal: formulación basada en ingredientes de origen vegetal. ³: alimento seco (pollo): alimento extrusado, formulación basada en carne de pollo; alimento seco (carne): alimento extrusado, formulación basada en carne vacuna; ⁴: digestibilidad aparente de alimento comercial; ⁵: Media, Rango: media y rango de coeficientes de digestibilidad de 38 alimentos comerciales extrusados para perros; ⁶: Certificados: alimentos certificados según el protocolo de CVMA; No certificados: alimentos no certificados según el protocolo de CVMA; ⁷: Digestibilidades de diferentes tipos de alimentos comerciales. dMS: digestibilidad de la materia seca; dMO: digestibilidad de la materia orgánica; dPB: digestibilidad de la proteína bruta; dEE: digestibilidad del extracto etéreo; dELN: digestibilidad del extractivo libre de nitrógeno.

Brown (1997) realizó una comparación entre alimentos comerciales certificados y no certificados, de acuerdo al protocolo de certificación de la CVMA de 1982. Comparando las digestibilidades para los macronutrientes entre los grupos (Tabla I), no se encontraron diferencias estadísticas significativas, aunque sí se observaron algunas diferencias en las digestibilidades entre alimentos dentro del mismo grupo. Las digestibilidades para todos los macronutrientes de ambos grupos fueron superiores al 80%.

En pruebas de digestibilidad con cachorros, comparando alimentos comerciales de diferente precio de venta y con idéntica declaración nutricional en la etiqueta, Huber *et al.* (1986) reportaron diferencias significativas en la digestibilidad. Los de bajo precio presentaron dMS menores a 65%, frente a dMS de 77% para la de mayor precio. Además los cachorros alimentados con los alimentos comerciales de bajo costo presentaron una menor tasa de crecimiento y un peor estado de pelaje. Con este estudio los autores concluyeron que alimentos comerciales con similares composición química declarada pueden tener diferencias nutricionales de relevancia.

3.3. PRINCIPALES FACTORES QUE AFECTAN LA DIGESTIBILIDAD

Existen varios factores que determinan el coeficiente de digestibilidad de un alimento comercial. En este sentido, Huber *et al.* (1986) sostienen que los alimentos de bajo precio de venta logran reducir sus costos utilizando materias primas de menor calidad, pero que pueden presentar menor digestibilidad y disponibilidad de nutrientes. Del mismo modo, para Crane *et al.* (2000) los determinantes principales son las diferencias en la selección y procesamiento de las materias primas, afectando principalmente la digestibilidad aparente de proteínas y carbohidratos, como puede verse en la Tabla I, que son los que presentan mayor variabilidad.

3.3.1. Factores vinculados a la fibra

La cantidad y tipo de fibra presente en un alimento para mascotas producen el mayor efecto general sobre la digestibilidad de los demás nutrientes. En una primera instancia, la digestibilidad aparente de la MS y MO disminuye con la suplementación con fibra, debido al reemplazo de nutrientes digestibles por componentes no digestibles o absorbibles en el intestino delgado. Distintos autores concluyeron que la inclusión de niveles crecientes de fibra en dietas para mascotas afecta negativamente la dMS (Burrows *et al.* 1982; Lewis *et al.* 1994) y la dPB (Burrows *et al.*, 1982, Silvio *et al.*, 2000). Castrillo *et al.*, (2001) describen que el nivel de fibra incide en la digestibilidad de los demás nutrientes del alimento, existiendo una relación negativa entre el contenido de fibra y la digestibilidad aparente de la MO, lo que refleja no solo la baja digestibilidad de la fibra, sino además, el efecto negativo de la FC en la dPB, dEE y dELN. Para Larsen *et al.* (1993) y Burkhalter *et al.* (2001) puede producirse un aumento en secreciones endógenas en respuesta a algunos tipos de fibra, lo que puede afectar la dPB al aumentar la pérdida de nitrógeno endógeno.

Otros autores han evaluado distintas fuentes de fibra y distintos niveles de inclusión en dietas para perros (Fahey *et al.* 1990a,b; Fahey *et al.* 1992; Sunvold *et al.* 1995a, b; Gajda *et al.*, 2005), describiéndose en todos los ensayos una disminución en la dMS, dMO y dPB al compararse dietas conteniendo fibra con dietas control. Además, la inclusión de distintos niveles y tipos de fibra provoca un aumento en la velocidad de tránsito gastrointestinal, afectando negativamente la digestibilidad de los nutrientes ya que limita el tiempo de acción de enzimas del aparato digestivo (Burrows *et al.*, 1982; Fahey *et al.*, 1990a,b; Fahey *et al.*, 1992; Lewis *et al.*, 1994; Spears *et al.*, 2005).

3.3.2. Factores vinculados a la proteína

La digestibilidad de la PB es un parámetro muy variable en los alimentos para mascotas dependiendo de la fuente proteica y del procesamiento de la misma. Las fuentes de proteína animal más comúnmente utilizadas en la elaboración de alimentos comerciales para mascotas son carne bovina, ovina y de pollo, harina y subproductos de pollo, harina de carne, harina de carne y hueso, harina de subproductos cárnicos, harina y subproductos de pescado, y productos de huevo desecados. Como fuente de proteínas de origen vegetal

las más utilizadas son la harina de soja y sus derivados, harina de gluten de maíz, harina de alfalfa y germen de trigo (Case *et al.*, 1997; Roudebush *et al.*, 2000; Dale, 2004).

Las harinas de subproductos animales pueden variar en sus composiciones y procesamiento y presentar elementos contaminantes como cuero, pelos, cabezas, cogotes, patas, intestinos o plumas. Debido a esto las harinas de carne, y carne y hueso son clasificadas según su contenido proteico, grasa y cenizas (Norma UNIT 509-82, 510-82). Fuentes proteicas con elevado contenido de tejido conectivo animal (abundantes en subproductos de carne) poseen complejos proteína-polisacáridos (condroitín sulfato, ácido hialurónico) que no pueden ser escindidos por enzimas digestivas endógenas (Fahey *et al.*, 1990a).

El procesamiento de las harinas no garantiza específicamente la temperatura, presión o tiempo empleados, lo que compromete la calidad del producto, carbonizando la materia orgánica y disminuyendo la digestibilidad total (Parsons *et al.*, 1997; Wang y Parsons, 1998; Shirley y Parsons, 2000). Johnson *et al.* (1998) estudiaron la digestibilidad aparente de los AA en harinas de carne y hueso procesadas a alta temperatura (145° C) y a baja temperatura (110° C). Los coeficientes de digestibilidad para los tratamientos a altas temperaturas fueron de 79,2% y 75,2% para los AA esenciales y AA totales respectivamente, en tanto que para los tratamientos a baja temperatura fueron de 86,4% para los AA esenciales y 84% para los AA totales. El excesivo tratamiento térmico puede llevar a que disminuya la digestibilidad de carbohidratos y proteínas de la dieta, debido a la producción de compuestos de Maillard (Martínez Puig, 2006; Hendriks *et al.*, 1999; Wiseman, 1993). Por tanto, Crane *et al.* (2000) y Jondreville y Gálvez (1995), manifiestan que se debe determinar la digestibilidad y la disponibilidad de AA de un ingrediente proteico para asegurar la calidad de las proteínas.

Con respecto a las fuentes proteicas vegetales, la soja y sus derivados son las más estudiadas, encontrándose en la bibliografía resultados diversos al compararlos con fuentes proteicas de origen animal. Clapper *et al.* (2001) concluyeron que la proteína de soja incluida en dietas para caninos, procedentes de distintos tratamientos tecnológicos (harina, molidos, concentrados, texturizados), al ser combinadas con otras fuentes proteicas que contienen AA complementarios, pueden constituir una fuente económica de proteína de alta disponibilidad y calidad. Fahey *et al.* (1990a,b) y Swanson *et al.* (2004) observaron diferencias al comparar dietas formuladas con una fuente proteica de origen animal frente a otra de origen vegetal en perros; la dieta basada en proteína animal presentó una mayor digestibilidad para la MS, materia orgánica (MO), y lípidos, aunque no para la PB (Tabla I). Estas diferencias pueden deberse a la inclusión de harina de soja como fuente proteica en la dieta vegetal, que por ser una fuente de oligosacáridos lleva a una mayor producción de heces, con una menor digestibilidad aparente. Una desventaja que pueden presentar las dietas de origen vegetal, es un nivel relativamente elevado de fibra dietética total (FDT), lo que puede resultar en una menor dMS y dMO, con respecto a dietas que contienen proteínas de origen animal (Swanson *et al.* 2004).

Al evaluar harina de carne y huesos, harina de vísceras de pollo, harina de poroto de soja y harina de gluten de maíz como fuentes proteicas para alimentos extrusados, Carciofi *et al.* (2006) encontraron que la dPB de los alimentos fueron superiores al 80% (Tabla I). La harina de soja presentó los menores coeficientes de dMS y dMO con un 81,1 y 86,3% respectivamente, lo que concuerda con datos publicados por Swanson *et al.* (2004). Silva *et al.* (2003) realizaron una evaluación biológica en ratas de tres fuentes de proteína utilizadas habitualmente en alimentos comerciales (torta de soja, harina de carne y harina de pollo) comparadas con una dieta control a base de caseína; los autores no observaron diferencias significativas en la digestibilidad verdadera, en tanto que al evaluar el valor biológico (VB) se observó que la harina de carne presentaba los valores más bajos, 0,37 frente a 0,59 y 0,61 para la torta de soja y la harina de pollo respectivamente (el VB de caseína correspondió a 0,98). El índice de eficiencia proteica presentó similares resultados con valores correspondientes a 1,39 para la harina de carne, 1,69 para la harina de pollo, 1,86 para la torta de soja y 2,11 para la caseína.

Fuentes alternativas de proteína animal también han sido objeto de estudio por otros autores. Dust *et al.* (2005), evaluando la digestibilidad de distintas fuentes proteicas, concluyen que las células rojas sanguíneas procesadas (proceded red blood cells) pueden constituir una proteína de alta calidad. Sin embargo, la incorporación de esta previo a la extrusión puede alterar la calidad de la proteína, por lo que datos sobre calidad proteica, palatabilidad y digestibilidad son necesarios para hacer un buen uso de estas para la industria elaboradora de alimentos comerciales para mascotas. Los subproductos de la industria pesquera incluyen subproductos de cabeza y vísceras, harinas de pescado e hidrolizados de proteínas de pescado. Estos subproductos pueden diferir ampliamente en su composición química, calidad proteica, perfil de AA y palatabilidad, dada la parte específica (vísceras, cabezas, colas) del pescado utilizada para elaborar los hidrolizados proteicos o harinas (Folador *et al.*, 2006). Sin embargo, los subproductos de la industria pesquera poseen un gran potencial para ser utilizados en la industria elaboradora de alimentos comerciales, como fuentes de AA esenciales y no esenciales, así como ácidos grasos n-3.

3.3.3. Factores vinculados a los almidones

La dELN en los alimentos comerciales para perros y gatos supera el 80% (Tabla I). En esta fracción del alimento se incluyen los almidones. Estos constituyen la principal fuente de energía de los alimentos para monogástricos, que representan el 60 a 80% en los cereales utilizados como materias primas (Wiseman 1993). La digestión del almidón del maíz, cebada, arroz y avena se aproxima al 100% en el intestino delgado de perros (Walker *et al.*, 1994; Gajda *et al.*, 2005). La digestibilidad del almidón de los cereales depende de variables como barreras físicas (tamaño de partículas, matriz proteica, complejos amilosa-lípidos), estructura del almidón (estructura cristalina, tamaño y composición del gránulo) y del tipo de procesado (Martínez Puig, 2006). El procesamiento con distintas tecnologías (rolado, molido, cocido, extrusado) de los cereales resulta trascendente para mejorar la digestibilidad del almidón.

Los alimentos utilizados en el presente trabajo de tesis son alimentos comerciales extrusados. La extrusión es la tecnología de elaboración de alimentos comerciales para mascotas más frecuentemente utilizada. La acción de la extrusión sobre el almidón se basa en la desorganización de su estructura interna gracias a la combinación del efecto del calor, la humedad, y la presión, transformándose en una fase de gel (gelatinización). El almidón gelatinizado es más fácilmente atacado por las enzimas digestivas facilitando su digestión (Wiseman, 1993; Pané Ripoll, 1993). Con respecto a las proteínas, la extrusión produce el desenredamiento de las cadenas proteicas vegetales e inactiva inhibidores de enzimas intestinales (factores antitripsicos) (Valls Porta, 1993; Peisker, 1996). Este tipo de procesamiento determinó un aumento de la digestibilidad ileal del nitrógeno en lechones (Peisker, 1996). Sin embargo, temperaturas muy elevadas pueden afectar la utilización de las proteínas debido a las reacciones de Maillard y procesos de desnaturalización.

3.3.4. Factores vinculados a los lípidos

Los lípidos son bien digeridos por los perros presentando generalmente valores superiores al 90% (Tabla I). Sin embargo, es posible que los procesos de extrusión puedan disminuir la digestibilidad de los lípidos. La menor digestibilidad de los lípidos observada por Gajda *et al.* (2005) pudo deberse a la formación de complejos entre la amilosa y los lípidos como resultado del proceso de extrusión, dado que la amilosa forma una estructura helicoidal rodeando los ácidos grasos y monoglicéridos. Estos autores describen que la digestibilidad del almidón fue variable debido a la formación de complejos con los lípidos, o por las características de la amilosa, que lleva a la producción de almidón resistente. También es posible una disminución en la digestibilidad debido a la formación de complejos entre oligo-fructanos y los lípidos durante la extrusión, según lo expuesto por Flickinger *et al.* (2003). De igual forma, Murray *et al.* (1998) describieron que dietas enterales conteniendo complejos amilopectina-lípidos presentaron una digestibilidad para los lípidos de 81,8%, mientras que para los tratamientos con almidón resistente (RS) y maltodextrina fueron de 95,4 y 94,2%. En los alimentos comerciales para perros, dado su alto contenido en lípidos, la formación de complejos entre los carbohidratos y lípidos es común.

3.3.5. Factores vinculados al animal

La digestibilidad también puede verse afectada por factores dependientes del animal como la variación de peso y tamaño. Para Crane *et al.* (2000), el peso relativo del tracto gastrointestinal al comparar perros de razas grandes frente a razas más pequeñas (Gran danés vs. Beagle) es menor para los primeros, lo que determina que el tiempo de tránsito oro-colónico sea más rápido, con heces más voluminosas y mayor contenido de agua y electrolitos en las heces, con un grado de consistencia fecal menos deseable, al ser alimentados con el mismo alimento. Paulsen *et al.* (2003) comparando animales de diferentes edades, concluyen que si bien la longitud del intestino delgado y área superficial (o superficie) en relación al peso corporal, son mayores en los cachorros al compararse con adultos, la superficie absorptiva total es mayor en los últimos, debido a un mayor tamaño corporal. Según Budington *et al.* (2003)

la actividad de las enzimas del borde en cepillo también es diferente entre cachorros y adultos, al igual que se observan cambios en las poblaciones microbianas que llevan a modificar la digestibilidad de los nutrientes a nivel intestinal.

3.3.6. Factores vinculados al nivel y frecuencia de alimentación

El nivel y frecuencia de alimentación también afecta la digestibilidad de los nutrientes. En este sentido, la mayor parte de la bibliografía consultada que hace mención a niveles y frecuencias de alimentación se basa en trabajos realizados en cerdos, con niveles de consumo elevados, cuyo objetivo es la ganancia de peso. No se encontraron publicaciones que hagan referencia a distintas frecuencias de alimentación en niveles de mantenimiento, así como tampoco se encontraron trabajos en perros que relacionen la frecuencia de alimentación y la digestibilidad.

Jørgensen *et al.* (1981) observaron una disminución en la digestibilidad ileal del ELN y carbohidratos solubles en cerdos de 60 kg de PV, a medida que el nivel de alimentación aumentó de 0,84 a 1,68 kg de MS por día. Similares resultados fueron descritos por Haydon *et al.* (1984) donde la digestibilidad aparente de la MS y de la energía bruta (EB) fue menor en cerdos en crecimiento alimentados *ad libitum* en comparación con niveles de alimentación de 3 o 4,5% del PV.

Del mismo modo, Chastanet *et al.* (2007) trabajando en cerdos en crecimiento, compararon tres programas de alimentación. Una cantidad equivalente a tres veces los requerimientos energéticos de mantenimiento, fue ofrecida una o dos veces por día, mientras que el tercer grupo fue alimentado *ad libitum*. Los resultados mostraron que no existieron diferencias en la digestibilidad ileal de la MS, EB y AA entre los tres tratamientos. Sin embargo, los cerdos alimentados *ad libitum* presentaron una menor digestibilidad aparente de la MS y EB; esto indica que la digestibilidad de la MS y EB en el intestino grueso fue menor en los cerdos alimentados libremente comparados con los alimentados una o dos veces por día. Los autores concluyeron que las mayores cantidades de alimento consumido pueden sobrepasar la capacidad digestiva de las bacterias del intestino grueso, lo que resulta en una reducción en la digestibilidad aparente de la MS y EB. Asimismo, de Haer y de Vries (1993) observaron que en cerdos alimentados *ad libitum* una mayor frecuencia de alimentación influye positivamente en la digestibilidad.

Para niveles crecientes de consumo (1, 2 y 3 niveles de mantenimiento), suministrados en dos comidas diarias, Moter y Stein (2004) reportaron influencias del nivel de consumo sobre la digestibilidad ileal en cerdos en crecimiento. Los mayores niveles de consumo produjeron una mayor digestibilidad ileal de PB y AA, mientras que para la digestibilidad aparente de la EB no se observaron diferencias importantes entre los tres niveles de consumo.

A pesar de que niveles elevados de alimentación se relacionan negativamente con la digestibilidad de los nutrientes, McDonald *et al.* (2006) sostienen que niveles de 3 a 4 veces el nivel de mantenimiento en cerdos en crecimiento y de

4 a 6 veces el mantenimiento de cerdas lactantes, no tienen efectos apreciables sobre la digestibilidad de los nutrientes en raciones con bajos contenidos en fibra. Del mismo modo, en perros alimentados con alimentos comerciales enlatados y semihúmedos en tres niveles diferentes de alimentación (1, 1,5 y 2 niveles de mantenimiento), Kendall *et al.* (1983) no observaron diferencias en la digestibilidad de la MS, MO, PB, EE y EB al considerar los diferentes niveles de alimentación.

3.4. INFLUENCIA DE LOS ALIMENTOS SOBRE LA CALIDAD DE LAS HECES

El volumen, el contenido en agua y la firmeza fecal son de importancia para la recolección de las heces por parte de los propietarios, la cual es obligatoria en la vía pública en el departamento de Montevideo (Resolución IMM). La producción diaria de heces tiene una relación inversa con la digestibilidad del alimento (Case, 1997). A medida que aumenta la digestibilidad de la dieta, el volumen fecal disminuye y se producen heces sólidas y mejor formadas. En animales sanos, el volumen fecal se correlaciona con la totalidad de la materia seca digerible en el alimento y una mayor digestibilidad influye en la calidad y cantidad de las heces (Crane *et al.*, 2000). Una ingesta reducida de MS disminuye el volumen de las heces y también puede mejorar los atributos de forma y textura de las mismas.

La calidad de las heces puede ser evaluada cuantitativamente (número de defecaciones diarias, peso, contenido en MS, pH) y cualitativamente (clasificación visual). La clasificación visual de las heces considerando consistencia y forma ha sido utilizada, con algunas variantes, en distintas investigaciones mediante una escala numérica (Strickling *et al.*, 2000; Flickinger *et al.*, 2003; Twomey *et al.*, 2003b; Zentek *et al.*, 2004; Spears *et al.*, 2004).

La calidad de las heces puede ser afectada por distintas variables. Mayer *et al.* (1999) estudiaron las características fecales para diferentes razas de perros alimentados con alimentos comerciales secos (91 % MS) y húmedos (21% MS), y observaron que la frecuencia de defecación fue mayor para alimentos húmedos, diferencia que fue más evidente en razas grandes; el contenido en humedad de las heces fue mayor para los alimentos húmedos (MS 26.6% vs 40.9%) y los alimentos secos presentaron mayor consistencia de las heces. Según lo expuesto por Zentek *et al.* (2004) al comparar alimentos secos frente a enlatados, los primeros tendieron a presentar heces mejor formadas, coincidiendo con un mayor contenido en MS fecal. La menor consistencia fecal puede estar relacionada en estos casos, con un menor porcentaje de MS de las heces debido a una mayor capacidad de retención de agua de las mismas.

En el trabajo de Carciofi *et al.* (2006) la producción de heces de peor calidad se correlacionó con la mayor presencia de agua en la materia fecal, junto con la menor dMO de los alimentos. No obstante para Sunvold *et al.* (1995a) y Twomey *et al.* (2003b) el porcentaje de MS no presentó una correlación importante con la consistencia fecal, siendo éste último parámetro más indicativo de la calidad de las heces. Gajda *et al.* (2005) reportaron contenidos

de MS de 28,9 a 36,7% en heces de perros alimentados con distintos tipos de maíz, que presentaron consistencias similares.

La influencia de la fibra sobre la consistencia fecal de las heces es importante. La fibra aumenta el volumen y retención de agua del contenido intestinal, es fermentada por la microflora del colon con producción de ácidos grasos volátiles (AGV) y ácido láctico, modula el tiempo de tránsito intestinal y distintos autores plantean que es necesario incluir cierta cantidad de fibra para mantener la salud y función óptima de todo el tracto gastrointestinal, así como para el control del peso corporal y tratamiento de la obesidad, debido a que conducen a un estado de saciedad del animal (Burkholder y Toll, 2000; Goss *et al.*, 2000). La cantidad óptima de inclusión de fibra se produce cuando las heces son lo suficientemente blandas como para prevenir constipación, pero a su vez suficientemente firmes para prevenir diarrea (Sunvold *et al.*, 1995a). Alimentos con altos contenidos en fibra en perros pueden tener un efecto negativo sobre la digestibilidad y la consistencia fecal (Twomey *et al.*, 2003b), de la misma forma que alimentos suplementados con altas cantidades de oligosacáridos que fermentan en el colon pueden causar fermentación ácida, que lleva a un exceso de producción de gas, flatulencia y diarrea (Strickling *et al.*, 2000). Esto concuerda con lo presentado por Fahey *et al.* (1990a,b) y Sunvold *et al.* (1995a) donde la inclusión de alimentos fibrosos llevó a una mayor producción de heces, a un menor contenido en MS de las mismas, y a una mayor frecuencia de defecación (nº de defecaciones en 24 h). En otros trabajos, la inclusión de fibras fermentescibles (oligosacáridos) produjo un aumento en el volumen fecal, en la cantidad de fibra en las heces y en la capacidad de retención de agua, con una peor consistencia, debido en parte a la capacidad osmótica de los AGV y lactato producidos por los microorganismos del colon (Flickinger *et al.*, 2000; Propst *et al.*, 2003).

Los distintos efectos de la fibra van a depender de las características físicas de la misma. La celulosa, al ser moderadamente fermentada y al tener menor capacidad de retención de agua, puede llevar a producir heces de mejor calidad. En el estudio de Wichert *et al.* (2002), los autores observaron que el tamaño de partícula de la celulosa produjo distintos efectos, ya que la de mayor tamaño (200 a 300 μm) fue la más efectiva en producir heces de mejor calidad, al ser comparadas con fibras de menor tamaño (32 a 75 μm). Por otra parte, Lewis *et al.* (1994) compararon la inclusión de diferentes fuentes de fibra (celulosa fina, celulosa gruesa, fibra de maíz, pectinas) frente a una ración control (almidón) y observaron que la cantidad de heces (gramos de MS) fue mayor para las dietas que incluían fibras, siendo el tratamiento con pectinas el que produjo mayor cantidad de heces frescas. Este último tratamiento también fue el que presentó menor tiempo ingestión - excreción (mayor velocidad de tránsito) y menor digestibilidad para los carbohidratos no fibrosos y energía.

Con respecto al pH fecal, este es un parámetro que se relaciona directamente con la actividad fermentativa de la microflora intestinal. Distintos investigadores indican que una mayor fermentación por parte de las bacterias produce mayores niveles de AGV y lactato que pueden ser utilizados por el animal como fuente de energía, mantener la salud del epitelio intestinal, disminuir la incidencia de cáncer de colon y controlar la proliferación de microorganismos

patógenos al reducir el pH (Strickling *et al.*, 2000; Flickinger *et al.*, 2003). Los ingredientes de la dieta que no son digeridos y absorbidos en el intestino delgado pasan al intestino grueso donde son fermentados por los microorganismos (Twomey *et al.*, 2003a). Además, la adición de fibra fermentescible a la dieta de perros lleva a un aumento en la producción de ácidos acético, propiónico, butírico y láctico, siendo los fructo-oligosacáridos los que generan una más rápida producción de los mismos (Flickinger *et al.*, 2000). Conjuntamente con la rápida producción de ácidos orgánicos se produce una disminución en el pH fecal (Swanson *et al.*, 2002).

Zentek *et al.* (2004) reportaron valores de pH fecal que estuvieron entre 6,50 a 6,78 para dietas secas y 7,02 a 7,06 para dietas semi-húmedas. Los valores más bajos de pH estuvieron directamente relacionados con las concentraciones más elevadas de AGV e inversamente con la concentración de NH₃ fecal (Zentek *et al.*, 2002, 2004). La mayor actividad fermentativa pudo causar un aumento de la población bacteriana del intestino grueso, lo que produjo la disminución de la digestibilidad aparente de PB reportada en estos trabajos. Twomey *et al.* (2003a,b) también describieron que en dietas para perros, a medida que se incrementaban los niveles de inclusión de polisacáridos no amiláceos, se favoreció la fermentación a favor del lactato, con una mayor producción del mismo y un descenso en el pH fecal.

3.5. INFLUENCIA DE LA ALIMENTACIÓN SOBRE LOS NIVELES DE GLUCOSA Y UREA EN SANGRE

Uno de los desafíos de la nutrición en los animales de compañía es la prevención y tratamiento de enfermedades a través de la dieta. El estudio de parámetros sanguíneos y las posibles modificaciones de éstos por tipos de alimentos y regímenes de alimentación toma importancia debido a que la dietoterapia (Crisp, 1996) es parte del tratamiento de enfermedades como la insuficiencia renal crónica y la diabetes. Se tratarán aquí la influencia de la alimentación sobre las concentraciones de glucosa y urea sanguínea.

La concentración normal de glucosa en sangre en perros sanos en ayunas oscila en un rango de 60 – 120 mg/dl (Coles *et al.*, 1989; Kraft y Dürr, 2000). La ingestión oral de carbohidratos produce un incremento de la glicemia, que normalmente no sobrepasa los 160 mg/dl, regresando a la normalidad cerca de la segunda hora postprandial (Coles *et al.*, 1989). Evaluando 20 alimentos comerciales secos y semihúmedos para perros, Nguyen *et al.* (1998b) describieron niveles de glicemia basales (en ayunas) para perros adultos sanos de 93,8 mg/dl. Estos autores concluyeron que en perros normales, la cantidad de almidón consumido es el principal determinante del nivel de glicemia postprandial, mientras que el contenido de PB, EE y almidón, parecen determinar la respuesta de insulina. También la administración oral o enteral de lípidos, y la presencia de fibra soluble (ej. pectinas) e insoluble (ej. celulosa) pueden conducir a concentraciones más bajas de glicemia postprandial.

El régimen de alimentación ha sido descrito como un factor capaz de modular el metabolismo. Cerdos alimentados varias veces al día en comparación con

una única comida presentaron menores concentraciones post-prandiales de insulina, menores niveles de glicemia postprandial, menor depósito de lípidos, niveles más estables de AA y glucosa en sangre y una menor gluconeogénesis a partir de AA durante el período preprandial, resultando en una mayor síntesis proteica (Boterman *et al.*, 2000).

La implicancia del fraccionamiento de la ración sobre la respuesta de glicemia postprandial es de particular interés en el manejo terapéutico de enfermedades como la diabetes mellitus. La administración de varias raciones de alimento pequeñas a intervalos regulares durante el día junto con la administración de insulina produce hiperglicemia mínima (Ihle, 1995; Case *et al.*, 1997; Zicker *et al.*, 2000). Además, las respuestas de glicemia pueden variar con el nivel de alimentación. Larson *et al.* (2003) observaron un área bajo la curva de glicemia menor en perros alimentados con un 75% (dieta restringida) de la misma dieta consumida por perros del grupo control. La eficiencia en la disponibilidad de glucosa y las respuestas de insulina fueron asociadas con un aumento en la calidad de vida y longevidad en los perros que fueron alimentados de manera restringida.

Asimismo, la composición de la dieta tiene relación con la respuesta de glicemia postprandial. Graham *et al.* (1994) observaron menores incrementos en el área bajo la curva y en la concentración de glucosa plasmática postprandial en perros diabéticos consumiendo alimentos altos en fibra en comparación con alimentos estándar, indicando que alimentos ricos en fibras conjuntamente con insulinoterapia son de utilidad en el manejo de la diabetes canina. Murray *et al.* (1999) y Spears *et al.* (2005) recomiendan que los individuos diabéticos consuman dietas bajas en lípidos y elevadas en carbohidratos complejos y fibra. Los carbohidratos complejos (como pectinas, gomas o pululans) atenúan las respuestas de glicemia, en parte debido a una menor tasa de digestibilidad de los carbohidratos. Además, la viscosidad de estos tipos de fibra puede ser responsable de una menor tasa de vaciado gástrico, con una menor velocidad de tránsito. Las fibras gelificantes tienen la habilidad de mejorar la tolerancia a la glucosa debido al disminuir su tasa de absorción (Murray *et al.*, 1999).

En lo que respecta a la concentración plasmática de urea, este constituye un parámetro ampliamente utilizadas en la clínica veterinaria para evaluar el estatus funcional renal. El tratamiento del síndrome urémico incluye la restricción proteica, con la utilización de dietas especiales conteniendo cantidades limitadas de proteína de alta calidad (Kopple *et al.*, 1968; Tauson y Wamberg, 1998). La concentración basal de urea sanguínea en perros sanos es de 20 a 50 mg/dl (Kraft y Dürr, 2000) y distintos autores (Romsos *et al.*, 1976; Watson *et al.* 1981; Case *et al.*, 1990; Tauson y Wamberg, 1998) reportaron que el nivel de urea sanguínea postprandial tiene relación directa con los niveles de ingestión proteica.

Anderson y Adney (1969) consideraron dentro de los límites normales niveles de urea sanguínea de 40 mg/dl en perros sanos, incrementándose estos niveles luego de la ingesta de proteína. Los resultados publicados por Watson *et al.* (1981) permitieron apreciar aumentos postprandiales importantes

($P < 0,001$) de la urea sanguínea tanto en perros consumiendo carne cruda, carne cocida y un alimento comercial semihúmedo, con picos de urea entre 4 y 8 h postprandiales. Sheffy *et al.* (1985) trabajando con perros jóvenes y gerontes obtuvieron niveles de urea distintos para distintos niveles de proteína en la dieta. Las dietas con 38,2 y 23,1% de PB presentaron niveles de urea plasmática significativamente mayores que para las dietas con 18,7 y 15,4% de PB para ambos grupos etáreos. Por otra parte, Case *et al.* (1990) trabajando con perros cachorros, observaron un aumento en los niveles de urea sanguínea con consumos de proteína crecientes (8, 14, 20, 26 y 32% de PB).

Anderson y Adney (1969) sugirieron que la magnitud del aumento postprandial de la urea sanguínea puede ser reducido suministrando los requerimientos de proteína diarios en 2 o 3 comidas pequeñas a lo largo del día, en lugar de una única comida diaria. En otros estudios (Kumta y Harper, 1961) se describe que niveles altos de urea sanguínea en ratas se asocian a desbalances de AA y a una pobre utilización de proteína, evidenciando que los niveles sanguíneos de urea van a estar influenciados por la cantidad, calidad y proximidad de la ingesta previa.

La determinación de la urea sanguínea también puede ser utilizada para predecir la tasa de excreción de N en la orina, los requerimientos de proteína, así como para desarrollar modelos matemáticos que permitan estimar la utilización de N (utilización proteica) en distintas especies, incluyendo monogástricos, como cerdos y ratas (Chen *et al.*, 1995; Zervas y Zijlstra, 2002a, b; Kohn *et al.*, 2005). Utilizando una base de datos de distintos trabajos, Kohn *et al.* (2005) describieron una relación lineal importante entre el nivel de urea sanguínea y la tasa de excreción de N, información que puede ser utilizada para predecir la eficiencia de utilización del N.

De la revisión bibliográfica realizada se desprende que existe mucha información que relaciona parámetros digestivos, fecales y metabólicos con diferentes características del alimento (composición, componentes y procesos de elaboración), en contraste con la escasa información que relaciona estos parámetros con esquemas de alimentación en perros. Del mismo modo no existe información nacional que oriente sobre la calidad nutricional y parámetros fecales de los alimentos que aquí se comercializan. Es, por tanto, de interés estudiar el efecto de diferentes esquemas de alimentación sobre el aprovechamiento de los nutrientes y el metabolismo de perros sanos, que permitan aplicar el régimen de alimentación más adecuado a las necesidades del animal.

4. HIPÓTESIS

El fraccionamiento de la ración mejoraría el aprovechamiento digestivo, características fecales y provocaría respuestas metabólicas de menor intensidad en perros alimentados con alimentos comerciales.

La magnitud de las respuestas al fraccionamiento sería diferente dependiendo de la calidad del alimento.

5. OBJETIVOS

5.1. OBJETIVO GENERAL

Estudiar el efecto del fraccionamiento del suministro de dos alimentos comerciales de diferente precio de venta, sobre la digestibilidad de los nutrientes, características fecales y respuestas metabólicas en perros alimentados en un nivel de consumo moderado.

5.2. OBJETIVOS PARTICULARES

- Comparar la digestibilidad de los nutrientes, consistencia fecal, cantidad de heces y pH fecal de dos alimentos comerciales de diferente precio de venta, suministrados una y tres veces por día.
- Evaluar las respuestas postprandiales de glucosa y urea plasmáticas en perros alimentados con dos alimentos comerciales de diferente precio de venta, suministrados una y tres veces por día.

6. MATERIALES Y METODOS

6.1. DISEÑO EXPERIMENTAL

Sobre una población de 8 perros adultos sanos, se aplicaron 4 tratamientos que consistieron en dos alimentos comerciales (A y B) suministrados con una frecuencia de 1 o 3 veces por día. Se trabajó en 4 periodos diferentes, siguiendo un diseño de 2 cuadrados latinos simultáneos (4x4). Cada período consistió en 5 días de adaptación seguidos de 3 días de recolección de muestras de heces, más un día de recolección de muestras de sangre (Figura 1).

Tratamiento 1: Alimento A una vez por día (A 1)

Tratamiento 2: Alimento A tres veces por día (A 3)

Tratamiento 3: Alimento B una vez por día (B 1)

Tratamiento 4: Alimento B tres veces por día (B 3)

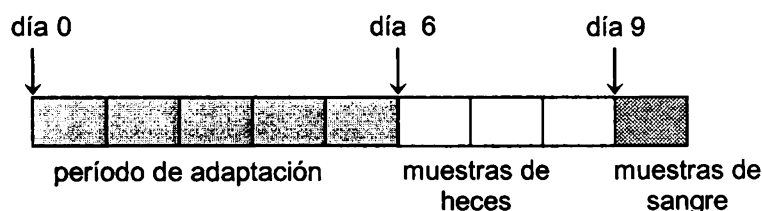


Figura 1. Esquema de cada período experimental

Fueron utilizados ocho perros Cocker Spaniel adultos, cinco hembras y tres machos de $10,4 \pm 1,5$ kg de PV. Los animales fueron alojados en caniles individuales de 1,5 x 2,0 m en la Unidad Experimental de Nutrición Canina (UENC) del Departamento de Nutrición Animal de la Facultad de Veterinaria. El protocolo experimental al cual fueron sometidos los animales fue aprobado por la Comisión de Bioética de la Facultad de Veterinaria. Los animales no presentaban signos clínicos de enfermedad y fueron desparasitados previo a la realización del protocolo.

6.2. ALIMENTACIÓN

La composición declarada en la etiqueta de ambos alimentos comerciales se presenta en la Tabla II. El alimento A presentaba un valor de venta 5 veces superior al de B. La cantidad (g MS) de alimento ofrecido se calculó para el alimento de menor densidad energética (B) para cubrir dos Requerimientos Energéticos en Reposo ($2 \times \text{RER}$; AAFCO, 1994), y se administró igual cantidad (g MS) del alimento A; de esta forma los animales recibieron $42,9 \text{ g MS/kg PV}^{0,75}/\text{d}$ de ambos alimentos. La ración se suministró a las 8:00 h cuando la frecuencia de suministro era 1 vez por día, y a las 8:00, 14:00 y

18:00 h cuando la frecuencia de alimentación era tres veces por día. Los alimentos fueron consumidos en su totalidad por todos los animales. El agua fue suministrada *ad libitum* en recipientes individuales, colocados dentro de cada jaula.

Tabla II: Composición química declarada de los alimentos comerciales

	Alimento A	Alimento B
Materia Seca	88,0	90,0
Proteína (% MS)	29,5	24,4
Extracto Etéreo (% MS)	17,0	5,6
Fibra (% MS)	3,4	3,3
Ca (% MS)	1,4	2,1
P (% MS)	0,9	1,4
Cenizas (% MS)	8,0	11,1
EM (kcal/kg MS)	3955	3200
Cantidad diaria recomendada (g)	149-224	190-260

Ingredientes declarados alimento A: pollo, arroz de cervecería, trigo molido, harina de subproductos avícolas, maíz amarillo molido, gluten de maíz, grasa animal preservada con tocoferoles mezclados (fuente de vitamina E), salvado de maíz, digesto animal, productos del huevo, aceite de pescado, L-lisina, cloruro de potasio, fosfato bicálcico, sal, cloruro de colina, taurina, DL-metionina, ácido ascórbico (fuente de vitamina C), sulfato de zinc, sulfato ferroso, suplementos vitamínicos (A, D-3, E, B-12), sulfato de riboflavina, niacina, pantotenato de calcio, suplemento de manganeso, biotina,, mononitrato de tiamina, ácido fólico, sulfato de cobre, clorohidrato de piridoxina, complejo bisulfito menadiona sódico (fuente de actividad de vitamina K), iodato de calcio, selenito de sodio.

Ingredientes declarados Alimento B: Harina de carne, harina de pollo, grasa de pollo, harina de arroz, harina de maíz, harina de trigo, sal, salvado de trigo, proteína de soja, núcleo vitamínico-mineral.

6.3 DETERMINACIONES

6.3.1. Digestibilidad aparente *in vivo*

El coeficiente de digestibilidad de cada fracción nutritiva, se determinó a través de la fórmula:

$$\% \text{ Digestibilidad} = \frac{\text{g Ingeridos} - \text{g en heces}}{\text{g Ingeridos}} \times 100$$

Para la determinación de lo excretado se recolectó durante tres días, tres veces por día, las materias fecales, las cuales fueron pesadas y se guardó una alícuota del 10% de cada deposición a -18 °C, conformando un conjunto (pool) para el posterior análisis químico de MS, cenizas, PB, EE, FC, de forma de calcular la dMS, dMO, dPB, dEE, dFC, dELN. Para la determinación de la dEE y dELN se utilizaron los valores provistos en la declaración nutricional de EE de los alimentos comerciales.

6.3.2. Análisis químicos

Para la determinación de la composición química, las muestras de alimento y de cada pool fecal individual fueron desecadas y molidas a 1 mm. Los análisis se realizaron por triplicado, exigiéndose unos coeficientes de variación entre repeticiones menores del 5%. Para la determinación de la MS, el contenido en cenizas, FC, EE y PB como $N \times 6,25$ se determinaron según las técnicas descritas por AOAC (1984); la Materia Orgánica (MO) se calculó como la diferencia entre la MS y las cenizas. El ELN se determinó según la ecuación de $\%ELN = 100 - (\%PB + \%EE + \%FC + \%cenizas)$.

6.3.3. pH fecal

El pH fecal se determinó en cada recolección de heces, luego de realizar una dilución de 1 g de materia fecal en 10 ml de agua destilada, utilizándose un pH metro digital (OAKTON[®], Singapore).

6.3.4. Consistencia Fecal

La consistencia fecal se determinó según el método descrito por Strickling *et al.* (2000), durante los tres días de recolección de materia fecal, para cada uno de los perros y de cada deposición. La consistencia fecal se basa en la evaluación subjetiva de la materia fecal considerando una escala de cinco puntos:

Grado 1: más de 2/3 de las heces defecadas son líquidas. Las heces han perdido toda forma asemejando un charco.

Grado 2: estado intermedio de heces entre blandas y líquidas. Aproximadamente la misma cantidad de heces en la defecación son blandas y líquidas.

Grado 3: más de 2/3 de las heces defecadas son blandas. Las heces mantienen suficiente forma como para apilarse pero han perdido su forma cilíndrica.

Grado 4: aproximadamente igual cantidad de heces en la defecación son firmes y blandas. Heces de forma cilíndrica.

Grado 5: más de 2/3 de las heces defecadas son firmes y secas. Heces de forma cilíndrica.

6.3.5. Parámetros plasmáticos

Las muestras de sangre se obtuvieron de vena safena utilizando catéteres pediátricos (ABBOT[®]), de la zona previamente depilada y desinfectada. Las extracciones se realizaron a la hora 8:00 de forma seriada cada 15 minutos, comenzando 30 minutos previo a la ingesta, extendiéndose hasta el minuto 60 postingesta inclusive. Cada muestra fue colectada en tubos con Anticoagulante G (Wiener lab[®]) y centrifugadas para la obtención de plasma. Estas se almacenaron en tubos eppendorf de 2 ml a -18 °C hasta su análisis.

La concentración plasmática de glucosa y urea fueron determinadas mediante métodos colorimétricos, utilizándose kits enzimáticos (GLUCOSE liquicolor[®] de HUMAN y UREA/BUN-COLOR[®] de BioSystems).

6.4. ANÁLISIS ESTADÍSTICOS

Los datos de dMS, dMO, dPB, dEE, dELN, pH, consistencia fecal, g de heces y %MS de las heces fueron comparados para los dos alimentos (A y B), las dos frecuencias de alimentación (1 y 3) y la interacción alimentos x frecuencias mediante contrastes ortogonales, con el programa estadístico SAS[®]. Las concentraciones de glucosa y urea en plasma fueron analizadas entre tratamientos y tiempo como medidas repetidas utilizando un modelo mixto (PROC MIXED de SAS[®]).

7. RESULTADOS

7.1. ANÁLISIS QUÍMICO DE LOS ALIMENTOS COMERCIALES

La comparación entre el contenido declarado, analizado y la diferencia porcentual entre ambos, para MS, Cenizas, PB y FC de los alimentos comerciales se presenta en la Tabla III. Puede observarse que existen diferencias al considerar la composición declarada en la etiqueta y la analizada en el laboratorio de Nutrición Animal. El alimento B presentó mayores diferencias siendo el contenido de FC casi el triple de lo declarado, en tanto la diferencia porcentual para la ceniza y PB fue de 20,5% y -24,0% respectivamente. La mayor diferencia porcentual en el alimento A se presenta en el contenido de cenizas siendo menor a un 23%.

Tabla III. Composición química analizada de los alimentos comerciales y desvío porcentual respecto a la composición química declarada.

	Alimento A			Alimento B		
	Declarado	Analizado	Desvío (%) ³	Declarado	Analizado	Desvío (%) ³
MS (%)	88,0	88,3	0,34	90,0	88,9	-1,22
Cenizas (% MS) ¹	8,00	6,16	-23,0	11,1	13,4	20,5
PB (% MS) ²	29,5	29,2	-0,92	24,4	18,6	-24,0
FC (% MS) ¹	3,40	3,33	-2,06	3,30	9,46	186

¹Valor declarado como máximo que puede contener; ²Valor declarado como mínimo que debe contener; ³Desvío(%) expresado como la diferencia porcentual entre los valores analizados y declarados

7.2. DIGESTIBILIDAD

En la Tabla IV y Figura I se presentan los porcentajes de digestibilidad *in vivo* para los diferentes macronutrientes en los cuatro tratamientos y la comparación entre los alimentos comerciales y las frecuencias de suministro.

Se observaron digestibilidades mayores al 80% para todos los macro nutrientes en el alimento A, destacándose la alta dEE, que para las dos frecuencias de suministro superó el 95%, y la dPB con valores superiores al 86%. Para el alimento B se apreciaron valores de dMS y dMO inferiores al 80% para las dos frecuencias de suministros; el valor máximo se apreció en la dEE, con valores de 82,07% y 83,77% para las frecuencias de una y tres veces respectivamente.

Tabla IV. Digestibilidad *in vivo* (%) en perros alimentados con alimentos comerciales suministrados 1 (A1 y B1) y 3 veces por día (A3 y B3).

	Tratamientos				ESM	P		
	A 1	A 3	B 1	B 3		A vs B	1 vs 3	Interacciones ²
dMS	81,8	84,9	71,0	70,1	1,66	<0,001	ns	ns
dMO	85,4	88,0	75,5	74,9	1,36	<0,001	ns	ns
dPB	86,8	88,3	81,5	81,6	1,18	<0,001	ns	ns
dFC	19,0	44,3	36,7	28,0	5,51	ns	ns	ns
dEE ¹	96,7	97,0	82,1	83,8	2,02	<0,001	ns	ns
dELN ¹	86,0	88,5	79,7	80,0	1,13	<0,001	ns	ns

¹ Digestibilidad calculada a partir de información declarada en la etiqueta. ESM: error estándar de las medias; P: probabilidad de los contrastes; ns: no significativo ($P>0,05$). ²alimento x frecuencia.

Al comparar las digestibilidades de los alimentos A y B se aprecian importantes diferencias ($P<0,001$) en la digestibilidad de MS, MO, PB, EE y ELN. Al considerar las diferencias en la digestibilidad de los macronutrientes entre alimentos pudo apreciarse que el alimento A presentó valores de dMS, dMO, dEE con más de 10 puntos porcentuales por encima del alimento B para ambas frecuencias de suministro.

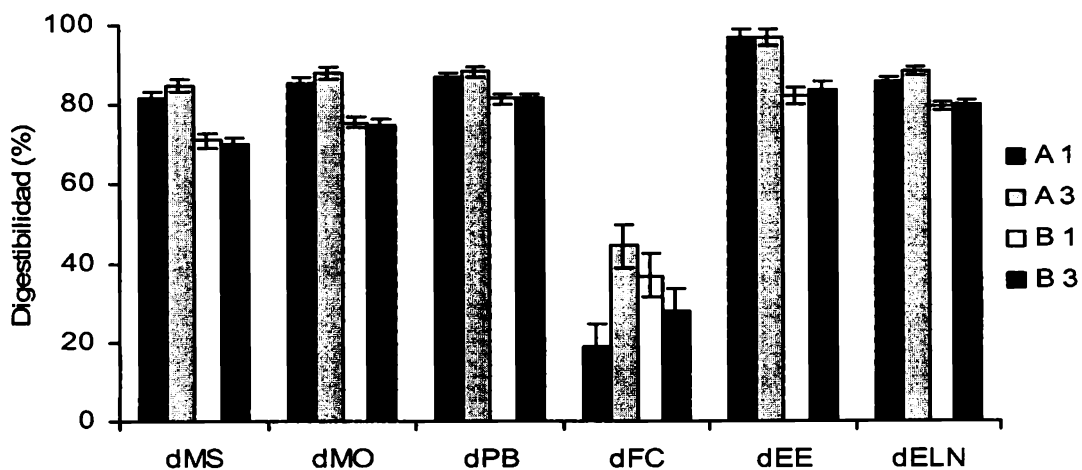


Figura 2. Porcentaje de digestibilidad aparente de los distintos tratamientos. Medias \pm error estándar (ES).

Al comparar las frecuencias de alimentación y la interacción entre el tipo de alimento y la frecuencia, no pudieron apreciarse diferencias significativas para ninguna de las digestibilidades estudiadas.

7.3. PARÁMETROS FECALES

Las producciones diarias de heces frescas, el porcentaje de MS, consistencia y pH de las heces se presentan en la Tabla V.

Tabla V. Cantidad diaria de heces frescas, porcentaje de MS en las heces, consistencia fecal y pH fecal en perros alimentados con alimentos comerciales suministrados 1 (A1 y B1) y 3 veces por día (A3 y B3).

	Tratamientos				ESM	P		
	A 1	A 3	B 1	B 3		A vs B	1 vs 3	Interacciones ¹
Heces (g/d)	123	115	217	209	13,4	<0,001	ns	ns
MS en heces (%)	33,6	33,0	34,0	35,6	0,78	0,07	ns	ns
Consistencia fecal	3,84	3,83	2,92	3,15	0,07	<0,001	ns	ns
pH fecal	6,52	6,66	7,03	7,07	0,10	<0,001	ns	ns

Consistencia fecal: 1 = heces líquidas; 5 = heces firmes. ESM: error estándar de las medias; P: probabilidad de los contrastes; ns: no significativo ($P>0,05$); ¹alimento x frecuencia.

También en este caso se pueden apreciar diferencias importantes entre los alimentos para la cantidad diaria de heces frescas, la consistencia y pH fecal. El alimento B produjo una mayor cantidad diaria de heces frescas. Para el porcentaje promedio de MS en las heces se observa una tendencia del alimento B a tener un mayor contenido en MS. En el caso de la consistencia fecal, pudo observarse que el alimento A produjo heces de mayor consistencia; los valores medios de consistencia fecal fueron de 3,84 y 3,04 para el alimento A y B respectivamente ($P<0,001$).

Los valores de pH fecal también presentaron diferencias importantes al comparar al alimento A frente al B, ya que el primero produjo heces con valores de pH más bajo.

De igual forma que para el análisis de digestibilidad, la frecuencia de suministro y la interacción entre los alimentos y frecuencias de suministro no demostraron tener incidencia sobre los gramos de heces frescas, porcentaje de MS en heces, la consistencia fecal y pH fecales.

7.4. PARÁMETROS SANGUÍNEOS

En la Figura 3 se presenta la evolución de la glucosa plasmática en función del tiempo para los diferentes tratamientos. Para este parámetro se pudieron observar diferencias entre los tiempos de medición de glucosa plasmática (Tabla VI).

Tabla VI. Concentraciones medias de glucosa y urea plasmáticas en perros alimentados con alimentos comerciales suministrados una (A1 y B1) y tres veces (A3 y B3) en el día.

	Tratamiento				Trat.	P	
	A1	A3	B1	B3		Tiempo	Trat. x tiempo
Glicemia (mg/dl)	81,27	78,17	81,48	82,28	ns	<0,01	ns
Urea (mg/dl)	33,69	36,66	37,37	34,69	ns	0,066	ns

P: probabilidad estadística; ns: no significativo ($P>0,05$); Trat: Tratamiento.

Se constató un incremento significativo, en función del tiempo, de los niveles de glicemia a partir del momento de la ingesta (Tabla VI). La forma de las curvas fue similar para los distintos tratamientos debido a que no pudieron apreciarse

diferencias entre tratamientos, como tampoco en la interacción entre tratamientos y tiempo (Figura 3).

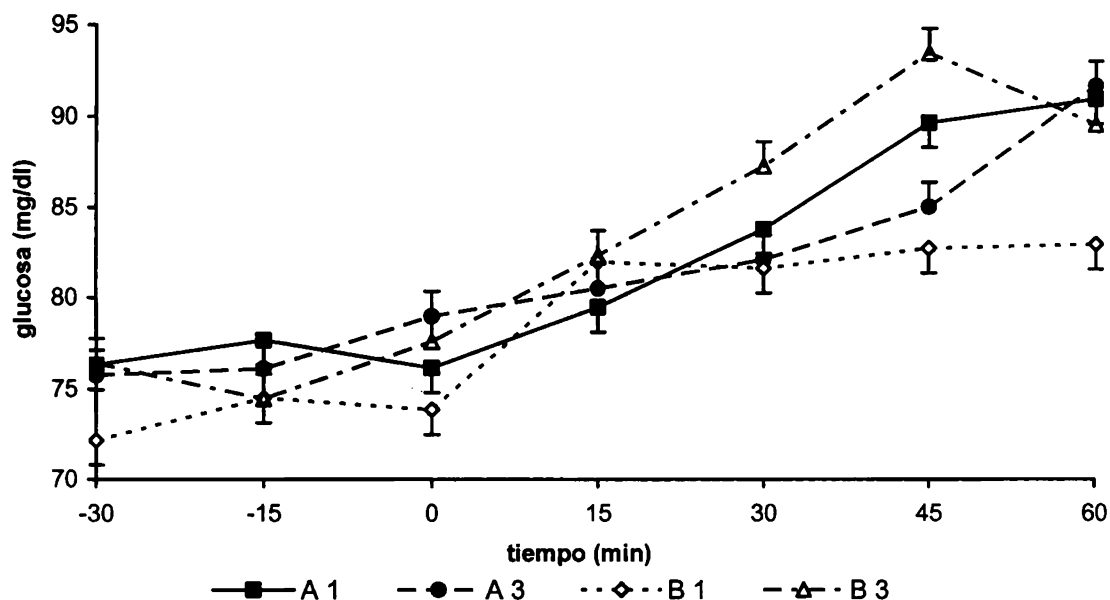


Figura 3. Evolución de las concentraciones de glucosa plasmática en el tiempo en perros alimentados con alimentos comerciales suministrados una (A1 y B1) y tres veces (A3 y B3) en el día. (Medias \pm error estándar).

Con respecto a la evolución de la urea plasmática (Figura 4), los valores de urea plasmática en función del tiempo tendieron a aumentar (Tabla VI). Los niveles más bajos se registraron 30 minutos previos al momento de la ingesta, constatándose los mayores niveles para los distintos tratamientos al minuto 60 de medición. Tampoco pudieron observarse diferencias al comparar los distintos tratamientos entre sí o para la interacción entre los tratamientos y el tiempo.

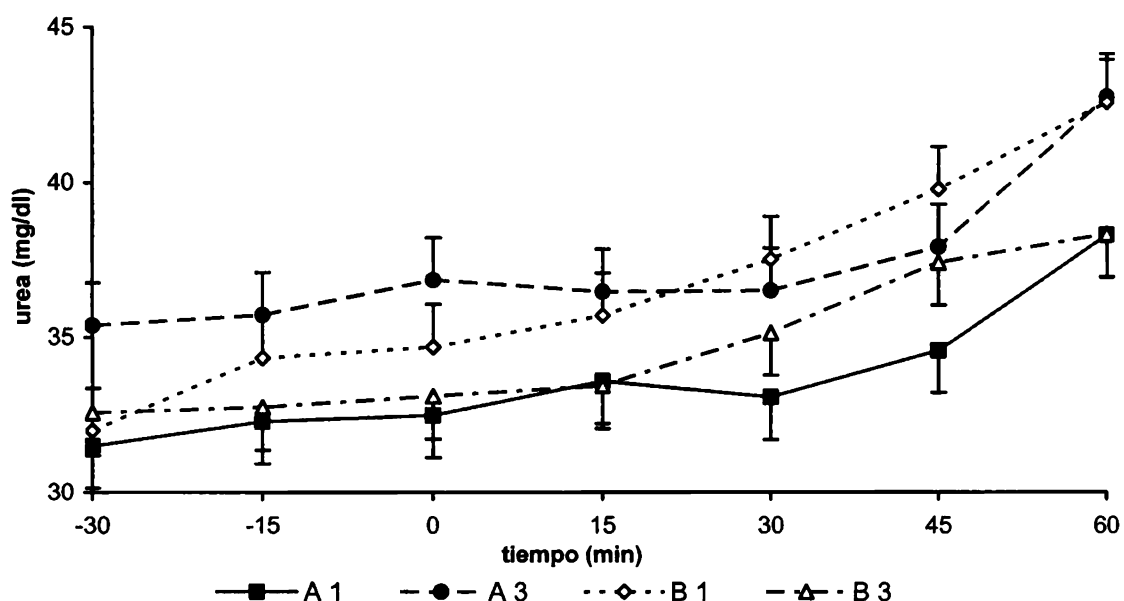


Figura 4. Evolución de las concentraciones de urea plasmática en perros alimentados con alimentos comerciales suministrados una (A1 y B1) y tres veces (A3 y B3) en el día. (Medias \pm error estándar).

8. DISCUSIÓN



8.1. COMPOSICIÓN QUÍMICA

Los alimentos evaluados en el presente trabajo tienen, para los nutrientes analizados, una composición que se ajusta a las recomendaciones realizadas por AFFCO (2002), NRC (1985) y CVMA (1999) para perros adultos en mantenimiento. Sin embargo, el alimento de menor precio de venta (alimento B) presentó mayores diferencias entre las concentraciones declaradas y analizadas de PB, cenizas y FC. De los alimentos evaluados, el alimento B presentó variaciones importantes en todos los nutrientes evaluados, siendo las diferencias porcentuales más importantes observadas en FC, PB y cenizas (Tabla III); los contenidos de FC y cenizas fueron mayores con respecto a lo declarado. Por otra parte, el contenido de PB fue menor a lo declarado. Para el alimento A, solamente en el contenido de cenizas la variación porcentual fue importante, pero ésta fue en un sentido favorable a la calidad del producto.

Las variaciones observadas en la composición química entre los alimentos pueden deberse a que las formulaciones de muchos alimentos para mascotas se basan en lograr un bajo costo por lo que pueden modificarse los ingredientes o sus porcentajes de participación en las mezclas cuando existen cambios en los precios de las materias primas (Huber *et al.* 1986; Crane *et al.*, 2000; Hodgkinson *et al.*, 2004). Otro factor puede corresponder a la calidad de las materias primas utilizadas, dado que en el caso de harinas de carne y carne y hueso estas pueden presentar una amplia variabilidad en su composición (Parson *et al.*, 1997; Wang y Parsons, 1998; Hendriks *et al.* 2002; Hodgkinson *et al.* 2004). Las variaciones encontradas en la declaración y la composición de PB y cenizas del alimento B pudo deberse a la utilización de una harina carne con menor nivel de proteína y mayor de cenizas de lo esperado.

8.2. DIGESTIBILIDAD

En el presente trabajo se apreciaron diferencias importantes entre los alimentos en las digestibilidades de MS, MO, PB, EE, ELN (Tabla IV). A pesar de que no existe a nivel nacional o internacional normas que exijan un mínimo de digestibilidad de los alimentos comerciales para mascotas, distintos organismos y autores recomiendan niveles mínimos de digestibilidad aceptables. El CVMA (1999) recomienda que los alimentos comerciales secos presenten digestibilidades superiores a 70% para MS, PB, lípidos y energía, y 30% para cenizas, en tanto que Lewis *et al.* (1987) y Case *et al.* (1997) recomiendan una dMS superiores al 80%. El NRC (1985) recomienda coeficientes de digestibilidad aparente de 80, 90 y 85% para PB, EE ácido y ELN respectivamente. Entre los alimentos evaluados, el A cumple con todas las recomendaciones planteadas anteriormente, mientras que el B cumple con las pautas propuestas por el CVMA (1999) y con el nivel mínimo de dPB recomendado por el NRC (1985).

Al comparar los coeficientes de digestibilidad de los dos alimentos evaluados, el de mayor precio de venta presentó digestibilidades superiores para todos los nutrientes estudiados a excepción de la dFC, donde no se apreciaron diferencias (Tabla IV). La calidad de las materias primas utilizadas y los procesos tecnológicos de elaboración pueden determinar estas diferencias. Similares resultados fueron obtenidos por Huber *et al.* (1986), quienes observaron que alimentos de bajo costo presentaron menores coeficientes de digestibilidad y produjeron menores tasas de crecimiento en cachorros. Sin embargo al comparar alimentos para mascotas de bajo y de alto costo, Krogdahl *et al.* (2004) no observaron relación entre precios, contenido de nutrientes y digestibilidad. Estas diferencias pueden deberse a que la composición química de los alimentos utilizados por estos autores fueron uniformes; ningún alimento presentaba más de 3% de FC y más de 8% de cenizas. En el presente trabajo de tesis, los alimentos no presentaron una composición química similar, con variaciones importantes en el contenido de FC, cenizas y PB.

El nivel de fibra de los alimentos evaluados es uno de los factores que posiblemente haya afectado en mayor medida la digestibilidad y las características fecales estudiadas. En el alimento B, que presentó un nivel de FC tres veces mayor al del alimento A, se observaron menores coeficientes de digestibilidad aparente para todos los nutrientes, y mayor producción de heces y de menor consistencia ($P < 0,001$). Según datos publicados por Burkhalter *et al.* (2001), la inclusión de fibra deprimió la digestibilidad de los nutrientes en perros, en primera instancia por la inclusión de materia indigestible en la dieta.

Resultados publicados por Fahey *et al.* (1990a) indicaron que la dMS disminuyó linealmente con niveles crecientes de FC. Burrows *et al.* (1982) publicaron resultados que muestran la depresión de la dMS de 90 a 70% al comparar una dieta con 0,6% frente a una con 14,7% de FC. Earle *et al.* (1998) utilizando una base de datos de distintos ensayos, observaron correlaciones negativas entre el contenido de FC y dMO ($r = -0,94$) y entre el contenido de FC y la digestibilidad de la energía bruta ($r = -0,89$). Además, Castrillo *et al.*, (2001) describieron una correlación negativa ($r = -0,85$) entre el contenido de FC y la dMO en 38 alimentos comerciales, junto con un efecto negativo de la FC en la dPB, dEE, dELN, y dEB. El aumento en el contenido de fibra puede provocar una disminución en el tiempo de tránsito intestinal, limitando el tiempo de contacto de los nutrientes con enzimas y superficies de absorción del aparato digestivo, lo que disminuye la digestibilidad de los nutrientes (Burrows *et al.*, 1982; Fahey *et al.*, 1990a,b; Fahey *et al.*, 1992; Lewis *et al.*, 1994). Considerando las materias primas utilizadas en la elaboración del alimento B (Tabla II), el salvado de trigo pudo haber afectado de forma negativa la digestibilidad y aprovechamiento digestivo de los demás nutrientes.

La baja dFC observada en el presente trabajo concuerda con datos de dFC presentados por otros autores (Fahey *et al.*, 1990a; Fahey *et al.*, 1990b; Zentek *et al.*, 2002), y fue menor en comparación con los coeficientes de digestibilidad de los demás nutrientes. Además la dFC en estas publicaciones fue el parámetro que presentó la mayor variación, con valores de ESM (error estándar de las medias) más altos, lo que concuerda con datos obtenidos en la

presente tesis. Esto sugiere que el procedimiento de FC puede ser deficiente e impreciso para el análisis de algunos alimentos que contienen concentraciones relativamente elevadas de fibra (Fahey *et al.*, 1990a).

La dPB presentó diferencias significativas entre los alimentos, siendo superior el alimento A (87,6%) al B (81,6%). No obstante, considerando las recomendaciones de dPB anteriormente mencionadas, la dPB de ambos alimentos es aceptable. Las variaciones en la digestibilidad de la proteína pueden deberse, en primera instancia, a diferencias en la composición y procesamientos tecnológicos de las distintas fuentes proteicas utilizadas (Parsons *et al.*, 1997; Johnson *et al.*, 1998; Wang y Parsons, 1998; Shirley y Parsons, 2000; Carciofi *et al.*, 2006). Para estos autores la calidad de las harinas de origen animal varía según los residuos que la componen, ya sean músculos, tejido conectivo, cartílagos, sangre y huesos, y factores propios de los procesos tecnológicos empleados, como ser temperatura, presión y tiempo.

Una de las hipótesis planteadas en el presente trabajo fue que el fraccionamiento de la ración diaria sería capaz de aumentar el coeficiente de digestibilidad de los alimentos evaluados. Los resultados obtenidos, al comparar el consumo de una vez frente a tres veces diarias no permitieron observar diferencias significativas entre la digestibilidad de los nutrientes para las diferentes frecuencias de alimentación. No obstante, otros autores observaron que el aumento en la frecuencia de alimentación produjo un aumento en la digestibilidad de los nutrientes en cerdos (Boterman *et al.*, 2000; de Haer y de Vries, 1993). Además, una mayor producción de enzimas digestivas fue observada por Hee *et al.* (1988), quienes reportaron que al aumentar la frecuencia de alimentación en cerdos, se produjo un aumento en el volumen de secreción pancreática exócrina y en los niveles de actividad de amilasa. Boterman *et al.* (2000) comparando 12 pequeñas comidas frente a una única comida diaria, también observaron cambios en el nivel de secreción pancreática, con una mayor descarga proteica (protein output), mayor actividad de quimiotripsina y mayor actividad de lipasa. Posiblemente, las diferencias entre los resultados presentados por estos autores y los resultados obtenidos en el presente trabajo, se deban a que en este último el nivel de alimentación fue restringido.

8.3. PARÁMETROS FECALES

En el presente trabajo no pudo observarse que el fraccionamiento diario de la ración provocara cambios significativos en las características fecales (cantidad diaria de heces, consistencia fecal, % MS de las heces, y pH fecal). En la bibliografía consultada no se encontró información que relacionara estos parámetros con frecuencias de alimentación.

De igual forma que los datos obtenidos en el presente trabajo, y a lo descrito por otros, puede decirse que la producción diaria de heces tiene una relación directa e inversa con la digestibilidad del alimento (Crane *et al.*, 2000). En el presente trabajo el alimento B presentó una dMS media de 70,6% y con una producción media de 213 g de heces por día, en tanto que el alimento A

presentó un promedio de dMS de 83,4% y una producción de heces de 119 g diarios (Tablas IV y V). Como fue descrito anteriormente, el mayor contenido de FC del alimento B fue uno de los factores que llevó a una menor digestibilidad del mismo, con la consiguiente mayor producción de heces. Estos datos concuerdan con los presentados por Fahey *et al.* (1990a,b) y Sunvold *et al.* (1995a), donde la inclusión de alimentos fibrosos llevó a una mayor producción de heces y a una mayor frecuencia de defecación (nº de defecaciones en 24 h).

En relación con la consistencia fecal, fueron consideradas satisfactorios valores de 3 y 4. Si bien la consistencia fecal que presentaron ambos alimentos fue aceptable, el alimento A produjo heces de mayor consistencia que el alimento B ($P < 0,001$). Heces de menor consistencia se observaron con el alimento B (Tabla V), que además presentó menor dMS y dMO y tendió a presentar menor humedad en las heces, siendo los porcentajes medios de MS de 33,3% para A y 34,8% para B. Esto no concuerda con lo expresado por Carciofi *et al.* (2006) y Zentek *et al.* (2004), donde la producción de heces de peor calidad se correlacionó con la mayor presencia de agua en la materia fecal. Sin embargo, y en concordancia con el presente trabajo, Sunvold *et al.* (1995a) y Twomey *et al.* (2003b) observaron que el porcentaje de MS fecal no presentó una correlación importante con la consistencia fecal, siendo éste último parámetro más indicativo de la calidad de las heces que el porcentaje de MS de las mismas.

En el presente ensayo se observó que el alimento A presentó valores de pH fecal significativamente menores a los del alimento B ($P < 0,001$), lo que refleja posiblemente, la mayor actividad fermentativa a nivel intestinal que se produjo con la primer dieta. Twomey *et al.*, (2003a) describen que los ingredientes de la dieta que no son digeridos y absorbidos en el intestino delgado pasan al intestino grueso donde son fermentados por los microorganismos. Además, la adición de fibra fermentescible a la dieta de perros lleva a un aumento en la producción de ácidos acético, propiónico, butírico y láctico, siendo los de rápida fermentación, como fructo-oligosacáridos los que generan una más rápida producción de los mismos (Flickinger *et al.*, 2000).

Zentek *et al.* (2004) describieron valores de pH fecal que estuvieron entre 6,50 a 6,78 y 7,02 a 7,06, para las dietas secas y semi-húmedas respectivamente, y que son similares a los observados en la presente tesis. Los valores de pH se relacionan directamente con las concentraciones elevadas de AGV, e inversamente con la concentración de NH_3 fecal (Zentek *et al.*, 2002, 2004). Conjuntamente con la rápida producción de ácidos orgánicos se produce una disminución en el pH fecal (Twomey *et al.*, 2003a,b; Swanson *et al.*, 2002; Hesta *et al.*, 2001). Si bien el contenido de fibra del alimento B fue mayor, el pH fecal fue menor cuando los animales fueron alimentados con el alimento A ($P < 0,001$), lo que sería indicativo de un mayor contenido de carbohidratos fermentescibles y una mayor producción de ácidos orgánicos en el intestino grueso (Sunvold *et al.*, 1995b; Twomey *et al.*, 2003a; Zentek *et al.*, 2004), condiciones que beneficiarían la salud intestinal.

8.4. GLUCOSA Y UREA EN PLASMA

Si bien uno de los objetivos del presente trabajo fue estudiar posibles modificaciones en la respuesta de glicemia postprandial con dos frecuencias de alimentación diferentes, los resultados obtenidos no permitieron describir un efecto del esquema de alimentación sobre este parámetro en perros sanos. No obstante, otros autores han publicado que cerdos alimentados varias veces en el día, en comparación con una única comida diaria, presentaron menores niveles de glicemia, menores concentraciones post-prandiales de insulina y niveles más estables de AA y glucosa en sangre (Boterman *et al.*, 2000). En el presente trabajo, los niveles medios de glicemia para todos los tratamientos se ubicaron cercanos a 80 mg/dl (Figura 3), lo que se considera dentro de los rangos normales para perros adultos sanos (Kraft y Dürr, 2000).

Las diferencias encontradas corresponden a los niveles de glicemia comparados en función del tiempo (Tabla VI), donde los niveles más elevados se produjeron entre el minuto 45 y 60 luego de la ingesta. Con las mediciones realizadas en el presente trabajo, hasta el minuto 60 postprandial, no pudo observarse si se alcanzó el pico de la curva de glicemia, por lo que hubiesen sido necesarias mediciones más prolongadas en el tiempo (Figura 3). El aumento máximo de glicemia con respecto al nivel basal, fue de 14,1, 15,9 y 9,7 mg/dl, para los tratamientos A1, A3 y B1 respectivamente en el minuto 60, y de 18,9 mg/dl en el minuto 45 para el tratamiento B3. Estos resultados se asemejan a los presentados por Nguyen *et al.* (1998a), quienes describieron que en perros el pico de la curva de glicemia se produjo, en promedio, a los 50 minutos (rango: 24 – 75 minutos) luego de la ingesta de alimentos comerciales secos. El aumento máximo de glicemia fue en promedio de 20 mg/dl (rango: 10,8 – 32,4 mg/dl), siendo los principales determinantes del nivel de glicemia postprandial, la cantidad de almidón consumido y la efectiva gelatinización del almidón alcanzada con los procesos de extrusión. Silveira *et al.* (2004) observaron picos de glicemia entre 140 y 250 minutos luego del consumo de alimentos conteniendo almidones crudos o gelatinizados. Un segundo pico de glicemia para el consumo de alimento conteniendo almidón gelatinizado de trigo, se relacionó con una mayor viscosidad de la digesta y una liberación más lenta y continua de glucosa a nivel intestinal.

A pesar de que la implicancia del fraccionamiento de la ración sobre las respuestas postprandiales de glicemia no fue concluyente, el manejo terapéutico de enfermedades como diabetes mellitus depende de la terapia de reemplazo con insulina y el manejo de la dieta y horario de las comidas (Ilhe, 1995; Nelson *et al.*, 1998; Zicker, *et al.*, 2000). Graham *et al.* (1994), Murray *et al.* (1999) y Spears *et al.* (2005) concluyeron que es posible mejorar el control de la diabetes debido a una tasa de vaciado gástrico más prolongada, un tránsito intestinal más lento y un aumento en la viscosidad de la digesta, con la inclusión de distintos tipos de fibras y carbohidratos complejos, lo que puede enlentecer la hidrólisis del almidón y retrasar la absorción de glucosa, produciendo una menor área bajo las curvas de glicemia. Si bien se atribuyó la menor digestibilidad del alimento B a un mayor contenido de fibra, la presencia de ésta no reflejó diferencias significativas en la respuesta de glicemia

postprandial entre tratamientos. Las diferencias observadas en la dELN entre alimentos no permitieron observar diferencias entre las curvas.

Con relación a los niveles de urea en sangre, se pudo observar que la concentración tendió a aumentar en función del tiempo, constatándose los niveles mayores al minuto 60 postprandial para todos los tratamientos. Los niveles basales de urea obtenidos en el presente trabajo se ubicaron en un rango de 31,9 – 35,6 mg/dl (Figura 4) y concuerdan con niveles descritos previamente (Anderson y Adney, 1969; Kraft y Dürr, 2000), quienes consideran dentro de los límites normales hasta 40 mg/dl en perros sanos en ayunas, niveles que se incrementan luego de la ingesta proteica. Anderson y Adney (1969) sugirieron que la magnitud del aumento postprandial de la urea sanguínea puede ser reducido suministrando los requerimientos de proteína diarios en 2 o 3 comidas pequeñas a lo largo del día, en lugar de una única comida diaria. No obstante, en el presente trabajo no se apreciaron diferencias significativas en los niveles de urea sanguínea al considerar las distintas frecuencias de alimentación o la interacción entre frecuencia y alimento (Tabla VI).

Watson *et al.* (1981), Case *et al.* (1990) y Tauson y Wamberg, (1998) reportaron que la magnitud y duración del cambio postprandial dependió de la fuente y cantidad de proteína consumida. Watson *et al.* (1981), observaron aumentos importantes ($P < 0,001$) de la urea sanguínea en perros consumiendo carne cruda, carne cocida y un alimento comercial semihúmedo, picos que se produjeron entre 4 y 8 horas luego de la ingesta. Los picos registrados por Tauson y Wamberg (1998) se produjeron a las 4 horas luego de la comida para dietas altas en proteína y a las 2 horas para dietas bajas en proteína. Una medición más prolongada de la urea sanguínea en el presente trabajo pudo haber arrojado datos de mayor relevancia en las diferencias entre los alimentos comerciales, lo que hubiera permitido realizar otras conclusiones sobre la utilización de la proteína.

9. CONCLUSIONES

No se observaron diferencias en la digestibilidad de los nutrientes, parámetros fecales y niveles plasmáticos de glucosa y urea postprandiales, con el fraccionamiento diario de los alimentos, para el nivel de alimentación utilizado.

El alimento A cumplió con recomendaciones de composición química y digestibilidad propuestos por todos los organismos y autores de referencia consultados, mientras que el B sólo con algunos. Además, el alimento B presentó importantes variaciones entre la composición química declarada y analizada.

El alimento A presentó mayores coeficientes de digestibilidad, menor cantidad diaria de heces, con una mayor consistencia y valores de pH fecal menores, que estarían relacionados con condiciones intestinales más saludables.

10. BIBLIOGRAFÍA

1. AACUE Acuerdo de Asociación entre Centoamérica y la Unión Europea. (2007). Disponible en: <http://www.uccaep.or.cr/sectoriales/presentaciones/Alimentos-para animales.ppt>. Fecha de consulta: 6/10/07.
2. AAFCO. Association of American Feed Control Official. (1994). Official Publication. Association of American Feed Control Officials. Atlanta, Georgia; 283 p.
3. AAFCO. Association of American Feed Control Official. (2000). Official Publication. Association of American Feed Control Officials. Atlanta, Georgia; 292 p.
4. AAFCO, Association of American Feed Control Official. (2002). Official Publication. Association of American Feed Control Officials. Atlanta, Georgia; 290 p.
5. Anderson R.S., Edney A.T. (1969). Protein intake and blood urea in the dog. *Vet Res*; 84: 348-349.
6. AOAC. Association of Official Analytical Chemists (1984). Official Methodos of Analysis, 14a Ed. Arlington, US. 1141 p.
7. Barnes, N. (2005). A market analysis of the US pet food industry to determine new opportunities for the cranberry industry. University of Massachusetts Dartmouth. Center for Business Research. 186 p. Disponible en: <http://www.umassd.edu/cmr/studies/cranbpetfood.pdf>. Fecha de consulta: 6/10/07.
8. Boixeda de Miquel I. (2000). Introducción a la alimentación canina y felina. Visión del mercado. XVI Curso de Especialización FEDNA. Avances en Nutrición y Alimentación Animal. Barcelona. España. pp. 185 – 192.
9. Boterman J.A.M., Hedemann M.S., Rhede-Winzell M.So, Erlanson-Albertsson Ch., Svendsen J., Evilevitch L., Pierzynowski S.G. (2000). The effect of feeding time (day versus night) and feeding frequency on pancreatic exocrine secretion in pigs. *J Anim Physiol Anim Nutr*; 83: 24–35.
10. Brown R.G. (1997). A comparison of certified and noncertified pet foods. *Can Vet J*; 38: 707-712.
11. Burkhalter T.M., Merchen N.R., Bauer L.L., Murray S.M., Patil A.R., Brent J.L. Jr., Fahey, G.C., Jr. (2001). The ratio of insoluble to soluble fiber components in soybean hulls affects ileal and total-tract nutrient digestibilities and fecal characteristics of dogs. *J Nutr*; 131: 1978–1985.
12. Burkholder W.J.; Toll P.W. (2000). Obesidad. En: Hand M.S., Thatcher C.D., Remillard R.L., Roudebush P. *Nutrición clínica en pequeños animales*. 4a. ed. Bs. As. Ed. Inter-Médica; pp 475-508.
13. Burrows, C.F., Kronfeld, D.S., Banta, C.A. & Merritt, A.M. (1982). Effects of fiber on digestibility and transit time in dogs. *J Nutr*; 112: 1726–1732.

14. Carciofi A.C., Pontieri R. Fonseca C., Prada F. (2006). Avaliação de dietas com diferentes fontes protéicas para cães adultos. R Bras Zootec; 35:754-760.
15. Case L.P. y Czarniecki-Maulden G.L. (1990) Protein requirements of growing pups fed practical dry-type diets containing mixed-protein sources. Am J Vet Res; 51:808–812.
16. Case L.P., Carey, D.P., Hirakawa D.A. (1997) Nutrición Canina y Felina, Manual para profesionales. Madrid. Ed. Harcourt Brace de España S.A. 424 p.
17. Castrillo, C.; Vicente, F.; Guada, J.A. (2001). The effect of crude fibre on apparent digestibility and digestible energy content of extruded dog foods. J Anim Physiol Anim Nutr; 85:231–236.
18. Castrillo C. (2004). Mercado Europeo. Disponible en: <http://minnie.uab.es/~veteri/21249/Tema%201.%20MERCADO.pdf>. Fecha de consulta 6/10/07.
19. Chastanet F. Pahm A.A., Pedersen C., Stein H.H. (2007). Effect of feeding schedule on apparent energy and amino acid digestibility by growing pigs. An Feed Sci Technol; 132: 94-102.
20. Chen H.Y., Miller P.S., Lewis A.J., Wolverson C.K., Stroup W.W. (1995). Changes in plasma urea concentration can be used to determine protein requirements of two populations of pigs with different protein accretion rates. J Anim Sci; 73:2631-2639.
21. Clapper G.M., Grieshop C.M., Merchen N.R., Russett J.C., Brent J.L.Jr., Fahey G.C., Jr. (2001). Ileal and total-tract digestibilities and fecal characteristics of dogs as affected by soybean protein inclusion in dry, extruded diets. J Anim Sci; 79:1523–1532.
22. Coles E. H. (1989). Diagnostico y patología en veterinaria. 4a. ed. México, D.F. Ed. Interamericana S.A.; 496 p.
23. Crane S.W., Griffin R.W., Messent P.R. (2000). Introducción a los alimentos comerciales para mascotas En: Hand M.S., Thatcher C.D., Remillard R.L., Roudebush P. Nutrición clínica en pequeños animales. 4a. ed. Bs. As. Ed. Inter-Médica; pp 127-147.
24. Crisp M.S. (1996). Técnicas de cuidados intensivos En: Birchard S.J., Sherding R.G. Manual clínico de pequeñas especies. México D.F. Ed. McGraw-Hill Interamericana; pp 24-41.
25. CVMA. Canadian Veterinary Medical Association (1999). Pet Food Certification Program. Ottawa. Ontario. 17 p.
26. Davenport D.J., Remillard R.L., Simpson K.W., Pigeon G.L. (2000). Enfermedad gastrointestinal y pancreática exócrina. En: Hand M.S., Thatcher C.D., Remillard R.L., Roudebush P. Nutrición clínica en pequeños animales. 4a. ed. Bs. As. Ed. Inter-Médica. pp: 851 – 950.
27. Decreto 328/93 del 9 de julio de 1993. Reglamento Bromatológico Nacional. Diario Oficial de la República Oriental del Uruguay, Montevideo, Uruguay, 9/07/1993.

28. de Haer L.C.M., de Vries A.G. (1993). Feed intake patterns and feed digestibility in growing pigs housed individually or in groups. *Livest Prod Sci*; 33; 277-292.
29. División de Protección de Alimentos Vegetales de la Dirección General de Servicios Agrícolas MGAP, 2003. Disponible en: <http://www.chasque.apc.org/dgsa/alimentos/estadisticas2003.htm>. Fecha de consulta, 10/2/07.
30. Dust J. M., Grieshop C. M., Parsons C. M., Karr-Lilienthal L. K., Schasteen C. S., Quigley III. J. D., Merchen N. R., Fahey G.C., Jr. (2005). Chemical composition, protein quality, palatability, and digestibility of alternative protein sources for dogs. *J Anim Sci*; 83:2414–2422.
31. Earle K.E., Kienzle E. Optiz B., Smith P.M., Maskell I.E. (1998). Fiber affects digestibility of organic matter and energy in pet foods. *J Nutr*; 128:2798S-2800S.
32. Fahey G.C., Jr., Merchen N.R., Corbin J.E., Hamilton A.K., Serbe K.A., Lewis S.M., Hirakawa D.A. (1990). Dietary fiber for dogs. I. Effects of graded levels of dietary beet pulp on nutrient intake, digestibility, metabolizable energy and digesta mean retention time. *J Anim Sci*; 68:4221–4228.
33. Fahey G.C., Jr., Merchen N.R., Corbin J.E., Hamilton A.K., Serbe K.A., Hirakawa D.A. (1990). Dietary fiber for dogs: II. Iso-total dietary fiber additions of divergent fiber sources to dog diets and their effects on nutrient intake, digestibility, metabolizable energy and digesta mean retention time. *J Anim Sci*; 68:4229-4235.
34. Fahey, G.C., Jr., Merchen N.R., Corbin J.E., Hamilton A.K., Bauer L.L., Titgemeyer E.C., Hirakawa D.A. (1992). Dietary fiber for dogs: III. Effects of beet pulp and oat fiber additions to dog diets on nutrient intake, digestibility, metabolizable energy, and digesta mean retention time. *J Anim Sci*; 70:1169–1174.
35. FEDIAF. European Pet Food Industry Federation. (2005). Guide for complete and complementary pet food for cats and dogs. Bruselas, Bélgica. 73 p. Disponible en: <http://www.fediaf.org/Pages/NutritionalGuidelines%202005.pdf>. Fecha de consulta: 11/5/06.
36. Flickinger E.A., Wolf B.W., Garleb K.A., Chow J.M., Leyer G.J., Johns P.W., Fahey G.C., Jr. (2000). Glucose-based oligosaccharides exhibit different in vitro fermentation patterns and affect in vivo apparent nutrient digestibility and microbial populations in dogs. *J Nutr*; 130: 1267–1273.
37. Flickinger E.A., Scheinjen E.M.W.C., Patil A.R., Hussein H.S., Grieshop C.M., Merchen N.R., Fahey G.C., Jr. (2003). Nutrient digestibilities, microbial populations, and protein catabolites as affected by fructan supplementation of dog diets. *J Anim Sci*; 81: 2008-2018.
38. Folador J.F., Karr-Lilienthal L.K., Parsons C.M., Bauer L.L., Utterback P.L., Schasteen C.S., Bechtel P.J., Fahey G.C., Jr. (2006) Fish meals, fish components, and fish protein hydrolysates as potential ingredients in pet foods. *J Anim Sci*; 84:2752-2765.

39. Gajda M., Flickinger E.A., Grieshop C.M., Bauer L.L., Merchen N.R., Fahey G.C., Jr. (2005). Corn hybrid affects in vitro and in vivo measures of nutrient digestibility in dogs. *J Anim Sci*; 83:160–171.
40. Graham P.A., Maskellj I.E., Nash A.S. (1994). Canned high fiber diet and postprandial glycemia in dogs with naturally occurring diabetes mellitus. *J Nutr*; 124: 2712S-2715S.
41. Haydon K.D., Knabe D.A., Tanksley T.D.Jr. (1984). Effects of level of feed intake on nitrogen, amino acid and energy digestibilities measured at the end of the small intestine and over the total digestive tract of growing pigs. *J Anim Sci*; 59:717–724.
42. Hee J., Sauer W.C., Mosenthin R. (1988). The effect of frequency of feeding on the pancreatic secretions in the pig. *J Anim Physiol Anim Nutr*; 60: 249–256.
43. Hendriks W.H., Emmens M.M.A., Trass B. Pluske J.R. (1999). Heat processing changes the protein quality of canned cat foods as measured with a rat bioassay. *J Anim Sci*; 77:669-676.
44. Hendriks W.H., Sritharan K. (2002). Apparent ileal and fecal digestibility of dietary protein is different in dogs. *J Nutr*; 132: 1692S–1694S.
45. Hesta M., Janssens, G.P., Debraekeleer J., De Wilde R. (2001). The effect of oligofructose and inulin on faecal characteristics and nutrient digestibility in healthy cats. *J Anim Physiol Anim Nutr*; 85: 135 – 141.
46. Hodgkinson S.M. Rosales C.E., Alomar D., Boroschek, D. (2004). Evaluación químico-nutricional de alimentos secos comerciales en Chile para perros adultos en mantención. *Arch Med Vet*; 36: 173 – 181.
47. Huber T.L., Wilson R.C., Mc Garity S.A. (1986). Variation in digestibility of dry foods with identical label guaranteed analysis. *J Am Anim Hosp Assoc*; 22: 571-575.
48. Ihle S. L. (1995). Nutritional therapy for diabetes mellitus. *Vet Clin North Am Small Anim Pract*. 25: 585-597.
49. Johnson M.L., Parsons C.M., Fahey G.C., Jr., Merchen N.R. Aldrich C.G. (1998). Effects of species raw material source, ash content and processing temperature on amino acid digestibility of animal by-product meals by cecectomized rooters and ileally cannulated dogs. *J Anim Sci* 76:1112-1122.
50. Jondreville C., Gálvez J.F. (1995). Estimación de la digestibilidad de aminoácidos en cereales y sus subproductos en dietas para ganado porcino. XI Curso de especialización FEDNA. Avances en Nutrición y Alimentación Animal. Barcelona. España. pp. 70 – 96.
51. Jørgensen H., Sauer W.C., Just A. (1981). The effect of level of feed intake on the digestibilities of nutrients at the terminal ileum and feces in pigs. *J Anim Sci* 53: 249.
52. Kendall P.T., Holme D.W., Smith P.M. (1982). Comparative evaluation and absorptive efficiency in dog and cat fed a variety of contrasting diet types. *J Small Anim Pract*; 23: 577-587.

53. Kendall P.T., Blaza S.E., Smith P.M. (1983). Influence of level of intake and dog size on apparent digestibility of dog foods. *Br vet J*; 139: 361-362.
54. Kohn R.A., Dinneen M.M., Russek-Cohen E. (2005). Using blood urea nitrogen to predict nitrogen excretion and efficiency of nitrogen utilization in cattle, sheep, goats, horses, pigs, and rats. *J Anim Sci*; 83:879–889.
55. Kopple J.D., Shinaberger J.H., Couburn J.W., Rubini M.E., (1968). Protein nutrition in uremia: A review. *Am J Clin Nutr*; 21:508-515.
56. Kraft, W., Dürr, U.M., (2000). *Diagnóstico Clínico de Laboratorio en Veterinaria*. Madrid. Ed. Editores Médicos S.A.; 368 p.
57. Krogdahl Å., Ahlstrøm Ø., Skrede A. (2004) Nutrient digestibility of commercial dog food using Mink as a model. *J. Nutr.* 134: 2141S-2144S.
58. Kumta, U.S., Harper A.E. (1961). Amino acid balance and imbalance: effects of dietary additions of amino acids on food intake and blood urea concentrations of rats fed low-protein diets containing fibrin. *J Nutr*; 74:139-147.
59. Larsen, F.M., Moughan, P.J. & Wilson, M.N. (1993) Dietary fiber viscosity and endogenous protein excretion at the terminal ileum of growing rats. *J. Nutr.* 123: 1898–1904.
60. Larson B.T., Lawler D.F., Spitznagel E.L.Jr., Kealy R.D., (2003) Improved glucose tolerance with lifetime diet restriction favorably affects disease and survival in dogs. *J Nutr*; 133: 2887–2892.
61. Lewis L., Morris M., Hand M. (1987). *Small animal clinical nutrition*. 3a. ed. Topeka, Ed. Mark Morris Associates, 459 p.
62. Lewis L.D., Magerkurth J.H., Roudebush P., Morris M.L., Jr. Mitchell E.E. Teeter S.M. (1994). Stool characteristics, gastrointestinal transit time and nutrient digestibility in dogs fed different fiber sources. *J Nutr*; 124:2716S-2718S.
63. Luggens J. (2005). Superpremium en Europa. *Especies*; 88:26-27. Disponible en: www.aconsult.info/superpremesp.html. Fecha de consulta, 10/2/07.
64. Martínez Puig D. (2006). Implicaciones digestivas y metabólicas del consumo de almidón resistente en el cerdo. Tesis Doctoral. Facultat de Veterinària de Barcelona. Universitat Autònoma de Barcelona; 203 p.
65. Mayer H., Zentek J., Hanberdoll H., Maskell I. (1999). Digestibility and compatibility of mixed diets and fecal consistency in different breeds of dog. *J Vet Med A*; 46:155-165.
66. Mc Donald P., Edwards R.A., Greenhalgh J.F., Morgan C.A. (2006) *Nutrición animal*. 6a. ed. Zaragoza. Ed. Acribia S.A.; 587 p.
67. Moter V., Stein H.H. (2004). Effect of feed intake on endogenous losses and amino acid and energy digestibility by growing pigs. *J Anim Sci*; 82:3518-3525.
68. Murray S.M., Patil A.R., Fahey G.C., Jr., Merchen N.R., Wolf B.W., Lai C.S., Garleb K.A. (1998). Apparent digestibility of a debranched amylopectin-lipid

- complex and resistant starch incorporated into enteral formulas fed to ileal-cannulated dogs. *J Nutr*; 128: 2032–2035.
69. Murray S.M., Fahey G.C., Jr., Merchen N.R., Sunvold G.D., Reinhart G.A. (1999). Evaluation of selected high-starch flours as ingredients in canine diets. *J Anim Sci*; 77: 2180-2186.
70. Nguyen P., Dumon H., Biourge V., Pouteau E. (1998a) Glycemic and insulinemic responses after ingestion of commercial foods in healthy dogs: influence of food composition. *J Nutr*; 128: 2654S-2658S.
71. Nguyen P., Dumon H., Biourge V., Pouteau E. (1998b) Measurement of postprandial incremental glucose and insulin changes in healthy dogs: influence of food adaptation and length of time of blood sampling. *J Nutr*; 128: 2659S-2662S.
72. Nott H.M.R., Rigby S.I., Jonson J.V., Bailey S.J., Burger I.H. (1994). Design of digestibility trials for dog and cats. *J Nutr*; 124: 2582S-2583S.
73. N.R.C. National Research Council. (1985). *Nutrient Requirements of Dogs*. National Academy Press, Washington, DC; 81p.
74. N.R.C. National Research Council. (1986). *Nutrient Requirements of Cats*. National Academy Press, Washington, DC; 79 p.
75. Pané Ripoll A. (1993). El Proceso de extrusión en cereales y habas de soja II. Experiencias prácticas. IX Curso de especialización FEDNA. *Avances en Nutrición y Alimentación Animal*. Barcelona. España. pp. 116 – 125.
76. Parsons C.M., Castanon F., Han Y. (1997). Protein and amino acid quality of meat and bone meal. *Poultry Sci*; 76:361-368.
77. Paulsen D.B., Buddington K.K., Buddington R.K. (2003). Dimensions and histologic characteristics of the small intestine of dogs during postnatal development. *Am J Vet Res*; 64:618–626.
78. Peisker M. (1996). Tratamiento tecnológico de los alimentos y sus implicaciones nutricionales. XII Curso de especialización FEDNA. *Avances en Nutrición y Alimentación Animal*. Barcelona. España. pp. 255 – 272.
79. Propst E.L., Flickinger E.A., Bauer L.L., Merchen. N.R., Fahey G.C., Jr. (2003). A dose-response experiment evaluating the effects of oligofructose and inulin on nutrient digestibility, stool quality, and fecal protein catabolites in healthy adult dogs. *J Anim Sci*; 2003. 81:3057–3066
80. Quincke D., Bayley L., Colombí G., Barrios A. (2002) Lanzamiento de Producto: alimento balanceado para perros; Monografía de Gestión de Marketing, Licenciatura en Dirección de Empresas, Facultad de Ciencias Empresariales, Universidad Católica del Uruguay. 26 p.
81. Romsos D.R., Belo P.S., Bennink M.R., Bergen W.G., Leveille G.A. (1976). Effects of dietary carbohydrate, fat and protein on growth, body composition and blood metabolite levels in the dog. *J Nutr*; 106:1452-1464.
82. Roudebush P., Dzanis D.A., Debraekeleer J., Brow R.G. (2000). Etiquetas de los alimentos para mascotas. En: Hand M.S., Thatcher C.D., Remillard R.L., Roudebush P. *Nutrición clínica en pequeños animales*. 4a. ed. Bs. As. Ed. Inter-Médica. pp: 175 – 194.

83. Sheffy B.E., Williams A.J., Zimmer J.F., Ryan G.D. (1985). Nutrition and metabolism of the geriatric dog. *Cornell Vet*; 75:324-347.
84. Shirley R.B., Parsons C.M. (2000). Effect of pressure processing on amino acid digestibility of meat and bone meal for poultry. *Poultry Sci*; 79: 1775-1781.
85. Silva W. S., Arbaiza T.F., Carcelén F.C., Lucas O.A. (2003). Evaluación biológica en ratas de laboratorio (*rattus norvegicus*) de fuentes proteicas usadas en alimentos comerciales para perros. *Rev Inv Vet Perú*; 14 (1): 18-23.
86. Silveira G.B., Paule B.P., Socorro E.P. (2004). Avaliação dietética de amidos pelas respostas glicêmica e insulinêmica em cães. *Arq Bras Med Vet Zootec*; 56: 595-601.
87. Silvio J., Harmon D.L., Gross K.L., McLeod K.R. (2000). Influence of fiber fermentability on nutrient digestion in the dog. *Nutr*; 16:289-295.
88. Spears J.K., Grieshop C.M., Fahey G.C., Jr. (2004) Evaluation of stabilized rice bran as an ingredient in dry extruded dog diets. *J Anim Sci*; 82:1122–1135.
89. Spears J.K., Karr-Lilienthal L.K., Grieshop C.M., Flickinger E.A., Wolf B.W., Fahey G.C., Jr. (2005). Pullulans and γ -cyclodextrin affect apparent digestibility and metabolism in healthy adult ileal cannulated dogs. *J Nutr*; 135: 1946–1952.
90. Strickling, J.A., Harmon D.L., Dawson K.A., Gross K.L. (2000). Evaluation of oligosaccharide addition to dog diets: influences on nutrient digestion and microbial populations. *An Feed Sci Technol*; 85: 205-219.
91. Sunvold G.D., Fahey G.C., Jr., Merchen N.R., Titgemeyer E.C., Bourquin L.D., Bauerf L.L., Reinhart G. A. (1995). Dietary fiber for dogs: IV. in vitro fermentation of selected fiber sources by dog fecal inoculum and in vivo digestion and metabolism of fiber-supplemented diets. *J Anim Sci*; 73:1099–1109.
92. Sunvold G.D., Fahey G.C., Jr., Merchen N.R., Reinhart G.A. (1995). In vitro fermentation of selected fibrous substrates by dog and cat fecal inoculum: influence of diet composition on substrate organic matter disappearance and short-chain fatty acid production. *J Anim Sci*; 73:1110 – 1122.
93. Swanson K.S., Grieshop C. M., Flickinger E.A., Bauer L.L., Healy H.P., Dawson K.A., Merchen N.R., Fahey G.C., Jr. (2002). Supplemental fructooligosaccharides and mannanoligosaccharides influence immune function, ileal and total tract nutrient digestibilities, microbial populations and concentrations of protein catabolites in the large bowel of dogs. *J Nutr*. 132: 980 – 989.
94. Swanson K.S., Kuzmuk K.N., Schook L.B., Fahey G.C., Jr. (2004). Diet affects nutrient digestibility, hematology, and serum chemistry of senior and weanling dogs. *J Anim Sci*; 82:1713–1724.
95. Tauson A.H., Wamberg S. (1998). Effects of protein supply on plasma urea and creatinine concentrations in female mink (*Mustela vison*). *J Nutr*; 128: 2584S-2586S.

96. Thatcher C.D., Hand M.S., Remillard R.L. (2000). Nutrición clínica en pequeños animales: un proceso repetitivo. En: Hand M.S., Thatcher C.D., Remillard R.L., Roudebush P. Nutrición clínica en pequeños animales. 4a. ed. Bs. As. Ed. Inter-Médica. pp: 1 – 22.
97. Twomey L.N., Pluske J.R., Rowe J.B., Choet M., Brown W., Pethick D.W. (2003). The replacement value of sorghum and maize with or without supplemental enzymes for rice in extruded dog foods. *Anim Feed Sci Technol*; 108: 61-69.
98. Twomey L.N., Pluske J.R., Rowe J.B., Choet M., Brown W., McConnell M.F., Pethick D.W. (2003). The effects of increasing levels of soluble non-starch polysaccharides and inclusion of feed enzymes in dog diets on faecal quality and digestibility. *Anim Feed Sci Technol*; 108: 71-82.
99. Valls Porta A. (1993). El proceso de extrusión en cereales y habas de soja I. Efecto de la extrusión sobre la utilización de nutrientes. IX curso de especialización FEDNA. Avances en Nutrición y Alimentación Animal. Barcelona. España. pp. 109 – 115.
100. Walker J.A., Harmon D.L., Gross K.L., Collings G.F. (1994). Evaluation of nutrient utilization in the canine using the ileal cannulation technique. *J Nutr*; 124:2672S-2676S.
101. Wang X., Parsons C.M. (1998). Effect of raw material source, processing systems, and processing temperatures on amino acid digestibility of meat and bone meals. *Poultry Sci*; 77:834-841.
102. Watson A.D.J., Church D.B., Fairburn A.J., (1981) Postprandial changes in plasma urea and creatinine concentrations in dogs. *Am J Vet Res*; 42: 1878-1880.
103. Wichert B., Schuster S., Hofmann M., Dobenecker B., Kienzle E. (2002). Influence of different cellulose types on feces quality of dogs. *J Nutr*; 132: 1728S–1729S.
104. Wiseman J. (1993). El procesado de cereales en dietas de monogástricos. IX Curso de especialización FEDNA. Avances en Nutrición y Alimentación Animal. Barcelona. España. pp. 129 – 141.
105. Zentek J., Marquart B., Pietrzak (2002). Intestinal effects of mannanoligosaccharides, transgalactooligosaccharides, lactose and lactulose in dogs. *J Nutr*; 132: 1682S–1684S.
106. Zentek, J., Fricke S., Hewicker-Trautwein M., Ehinger B., Amtsberg G., Baums C. (2004). Dietary protein source and manufacturing processes affect macronutrient digestibility, fecal consistency, and presence of fecal *Clostridium perfringens* in adult dogs. *J. Nutr.* 134: 2158S-2161S.
107. Zervas, S., Zijlstra, R.T. (2002). Effects of dietary protein and oathull fiber on nitrogen excretion patterns and postprandial plasma urea profiles in grower pigs. *J Anim Sci*; 80:3238–3246.
108. Zervas, S., Zijlstra, R.T. (2002). Effects of dietary protein and fermentable fiber on nitrogen excretion patterns and plasma urea in grower pigs. *J Anim Sci*; 80:3247–3256.

109. Zicker S.C., Ford R.B., Nelson R.W., Kirk C.A. (2000). Trastornos endocrinos y de los lípidos. En: Hand M.S., Thatcher C.D., Remillard R.L., Roudebush P. Nutrición clínica en pequeños animales. 4a. ed. Bs. As. Ed. Inter-Médica; pp: 993-1034.