

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO.

DIVISIÓN DE CIENCIA ANIMAL.



**Degradación de la proteína mediante Digestibilidad In-Vitro de
alimento para cerdas lactantes con 10% y 20% de desperdicio
deshidratado de comedor.**

Presentada por:

ANEL ALARCÓN MARTÍNEZ

TESIS

Presentada como requisito parcial para

Obtener el título de:

INGENIERO AGRÓNOMO ZOOTECNISTA

Buenavista, Saltillo, Coahuila, México

Noviembre del 2015

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

DIVISIÓN DE CIENCIA ANIMAL

Degradación de la proteína mediante Digestibilidad In-Vitro de alimento para cerdas lactantes con 10% y 20% de desperdicio deshidratado de comedor.

TESIS

Por:

ANEL ALARCÓN MARTÍNEZ

Que se somete a consideración del H. jurado examinador como requisito parcial para obtener el título de:

INGENIERO AGRÓNOMO ZOOTECNISTA

APROBADA

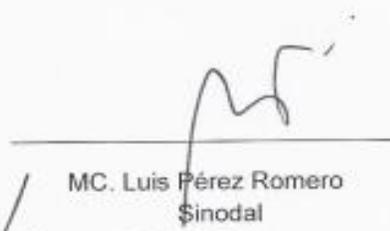


MC. Myrna Julieta Ayala Ortega

Director



Dr. José Dueñez Alanís
Sinodal



MC. Luis Pérez Romero
Sinodal



Dr. José Dueñez Alanís
Coordinador de la División de Ciencia Animal



Buenavista, Saltillo, Coahuila, México

Noviembre del 2015

DEDICATORIAS

A la mujer que me dio la vida mi ejemplo de vida e inspiración mi madre, la mujer que me brindo las herramientas para continuar hacia delante, por estar siempre a mi lado aun estando lejos, apoyándome en cada momento de vida, con el amor y cariño que solo una madre puede dar.

A mi padre, por haberme dado la vida y por haberme apoyado en mis decisiones.

A mis hermanos; Jazmín, Iridian y Francisco Alarcón Mtz. Amigos de sangre que siempre están conmigo en las buenas y en las malas, esos lazos de hermandad que nos unen son únicos e irremplazables.

A mis tías Rosalba y Maribel que me cuidaron mis primeros años de vida, su apoyo y palabras de aliento me ayudan a seguir adelante.

A una persona especial, Luis Alberto Reyes, estando a mi lado durante mi desarrollo profesional en las buenas y en las malas, brindándome su completa amistad, amor y cariño.

A mis mejores amigos, que son pocos pero sé que son amigos de calidad, Berenice, Yeine, Issamar, Alfonso, Rogelio, Antonio, que creyeron en mí, para seguir una carrera profesional.

A mis mejores amigos de la universidad, que llegaron para quedarse, Miguel Ángel, Pilar, A. Pacheco, Cesar, Andrés, Berenice.

A mi amigo José Manuel Márquez Castillo que no me abandonó en ningún momento desde que inicie este proyecto

A mis compañeros de zootecnia, de la generación CXVIII

AGRADECIMIENTOS

A dios por darme la dicha de la vida, una vida llena de bendiciones en la cual me acompañan personas maravillosas.

A mis padres por brindarme su apoyo económico y emocional sobre todas las cosas, por apoyar mis decisiones.

A mi Alma Mater, Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, nido de conocimiento y sabiduría.

A mis asesores; MC. Myrna Julieta Ayala Ortega, la MC. Laura Maricela Lara López, que me apoyaron a la realización y finalización de este proyecto,

A mis amigos; Berenice, Yeine, Jesús, Alfonso, Issamar, Antonio, Rogelio, Cecilia, Griselda.

A mis amigos de Saltillo; la familia Pineda Gaytán y a la familia Ramírez Andrade por enseñarme que aun estando lejos de casa, existen personas de buen corazón que nos hacen sentir en casa.

A mis compañeros de la carrera Ingeniero Agrónomo Zootecnista toda la generación CXVIII.

A mis mejores amigos Luis Alberto, Miguel Ángel, José Manuel, que me apoyaron mucho, durante mis estudios y en la elaboración de la tesis.

A mis amigos de Latin American Training

“Si quieres llegar rápido ve sólo, pero si quieres llegar lejos ve Acompañado”

ÍNDICE GENERAL

	Pág.
Dedicatoria	iii
Agradecimientos	iv
Índice de cuadros	vii
Resumen	1
I. INTRODUCCIÓN	2
Objetivo	3
Hipótesis	3
II. REVISIÓN DE LITERATURA	4
1. Alimentación	4
1.1 Desperdicios de cocina en la alimentación del cerdo	4
1.2 Alimentación de cerdas lactantes	5
1.3 Requerimientos nutricionales de cerdas lactantes	5
1.4 composición química de los desperdicios de comedor	6
2. Valor nutricional de una dieta	7
2.1 Determinación del valor nutritivo de los alimentos	7
3 Importancia de la digestibilidad	7
3.1 Digestibilidad	8
3.2 Razones para estudiar la digestibilidad	8
3.3 Antecedentes históricos para determinar la digestibilidad	9
3.4 Métodos para determinar la digestibilidad de la proteína en alimentos	10
3.4.1 Métodos biológicos	10
3.4.2 Métodos químicos	10
3.4.3 Métodos enzimáticos	10

	Pág.
3.4.4 Utilización del contenido intestinal del cerdo	10
4 Tipos de digestibilidad	11
4.1 Digestibilidad In-Vivo	11
4.2 Digestibilidad In-Vitro	11
4.2.1 Disponibilidad Ileal de proteína In-Vitro	12
III. MATERIALES Y MÉTODOS	15
IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	20
V. CONCLUSIÓN	24
VI. LITERATURA CITADA	25
VII. ANEXOS	31

Índice de cuadros

	Pág.
Cuadro 1.- Análisis químico del desperdicio deshidratado de comedor y cocina utilizado en la alimentación de cerdos	6
Cuadro 2.- Porcentaje de digestibilidad de materia seca en tres alimentos con inclusión de desperdicio de comedor y cocina.	20
Cuadro 3.- Análisis de proteína antes de digestibilidad In-Vitro	20
Cuadro 4.- Porcentaje de Proteína después de la digestibilidad In-Vitro para la etapa de Lactación.	21

Índice de figuras

Pág.

Ilustración 1- Porcentaje de digestibilidad de Materia Seca	21
Ilustración 2 - Porcentaje de Proteína antes de la digestibilidad (PADIV) y después de la digestibilidad In-Vitro (PDDIV)	22
Ilustración 3- Porcentaje de Proteína asimilable	22

RESUMEN

La presente investigación se llevó a cabo en la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, localizada en Buenavista, Saltillo, Coahuila. El experimento consistió en la sustitución de un concentrado con 10 y 20 % de desperdicio de comedor deshidratado (DCCD), para posteriormente ser sometido a una digestibilidad In-Vitro. El objetivo fue evaluar la degradación de la proteína resultante, después de la digestibilidad In-Vitro a través del método de Furuya.

Los valores de la digestibilidad de materia seca se encuentran en un rango de 70.52% y 85.78%, con una media de 79.27%.

Los valores de digestibilidad de proteína después de la digestibilidad In-Vitro se encuentran en un rango de 6.76% y 10.36%,

El tratamiento con mayor asimilación y aprovechamiento fue el T3 (C:DCCD 80:20)

Concluyendo que la cantidad de desperdicio de comedor y de cocina deshidratado aumenta el contenido de proteína antes y después de la digestibilidad In-Vitro. La cantidad de desperdicio de comedor y cocina incrementan el contenido de proteína de las dietas T1 (C:DCCD 90:10) y T2 (C:DCCD 80:20)

Correo electronico; Anel Alarcón Martínez, enyol_alar@hotmail.com

Palabras clave: Digestibilidad, digestibilidad In-Vitro, Proteína, cerdas lactantes, desperdicios de comedor.

I. INTRODUCCIÓN

Los animales deben obtener de los alimentos todos los componentes necesarios para renovar su materia viva, aumentar de peso (crecimiento, gestación) y para la producción. Las cantidades de elementos nutritivos asimilables que se requieren para la realización de todas estas actividades definen las necesidades de agua, energía, proteína y aminoácidos esenciales, minerales y vitaminas (Fraga, 1985).

En la producción porcina la alimentación representa un 80% en cuanto a los costos totales, estos se pueden ver reducidos utilizando desperdicios de cocina, (Osejo, 2015). Los cuales para ser suministrado a los cerdos, debe pasar por un proceso de deshidratación o cocimiento, para evitar algún tipo de contaminación en el alimento (Morilla *et al*, 2000).

Para definir las características de los alimentos a suministrar, es preciso conocer tanto las necesidades de los animales como los factores que modifican los aportes alimenticios, entre los que el nivel de consumo es más importante y, por último los factores que modifican la absorción y la utilización, metabólica de los alimentos.

Para la estimación del valor nutritivo de los alimentos y en especial la digestibilidad de los nutrientes en las dietas para monogástricos, se han empleado diversas técnicas de valoración In-Vitro que simulan los procesos digestivos a lo largo del tracto digestivo (Fondevila y Barrios, 2011).

Las técnicas In-Vitro son baratas a diferencia de otras técnicas de estimación, el tiempo de realización es menor y favorecen un mejor control de las condiciones experimentales. Sin embargo, para que un método de laboratorio sea eficiente, debe ser fácilmente reproducible y estar altamente correlacionado con los indicadores In-Vivo (Getachew *et al*, 1998). Además, permiten evaluar un gran número de muestras al mismo tiempo y a un menor costo (Boisen y Fernández, 1995).

OBJETIVO

Determinar el contenido de la digestibilidad In-Vitro de la proteína del concentrado comercial y su sustitución con el 10% y 20% de desperdicio deshidratado de comedor mediante el método de Furuya.

HIPÓTESIS

Ho: La cantidad de desperdicio deshidratado del comedor y cocina presente en la dieta, no afecta el contenido de proteína antes y después de la digestibilidad In-Vitro.

Ha: La cantidad de desperdicio deshidratado del comedor y cocina presente en la dieta, afecta el contenido de proteína antes y después de la digestibilidad In-Vitro.

II. REVISIÓN DE LITERATURA

1. Alimentación

El cerdo es omnívoro se alimenta de todo lo que tiene valor nutritivo, tanto substancias animales como vegetales y cuando está cerca de la casa devora sobras de la mesa y los residuos de la cocina para buscar gusanos, caracoles etc. Como fuente de alimento, convierten los cereales, como el maíz y sorgo, y las leguminosas, como la soya, en carne (Ecured, 2013).

La alimentación de los cerdos constituye hasta el 80 por ciento de los gastos totales, por lo que los desperdicios representan un volumen importante de alimentos que pueden reciclarse, para la nutrición animal productiva, reduciendo costos de alimentación (Osejo, 2015).

1.1 Desperdicios de cocina en la alimentación del cerdo.

Un estudio realizado por egresados de la UNA (Universidad Nacional Agraria) determino que en cuanto a los costos de alimentación con desperdicios de cocina, éstos resultan ser económicamente más rentables (UNA y IFS, 2015).

En México se manejan distintas consideraciones en contra del uso de los residuos orgánicos en la alimentación porcina, entre los que resaltan las relacionadas con la sanidad (Sanginés *et al*, 2015).

Algunas de las principales limitantes para la utilización del desperdicio de comedor son la variabilidad en su composición química nutrimental, y el riesgo de transmisión de enfermedades (Rivas *et al*, 1995). Por lo que se recomienda someter a una re-cocción o deshidratación, antes de suministrarla.

1.2 Alimentación de cerdas lactantes.

Las cerdas se alimentan desde el día 109 de la gestación con 1 a 2 kg de un producto con 13% de proteína (17% primerizas) y 3.2 Mcal EM/kg. El día del parto no se les ofrece alimento y posteriormente se les ofrece a libre acceso el alimento durante toda la lactancia (Shimada, 2003).

El alimento para cerdas lactantes debe contener 17% de proteína cruda (Johnston *et al*, 1993). El NRC (1988), recomienda para cerdas lactantes con un peso promedio de 165 kg un consumo diario de 689 g de proteína cruda y 31.8 g de lisina. Con ello se aportarían suficientes nutrientes para cerdas lactantes cuyas camadas registren una ganancia de peso de entre 0.98 y 1.66 Kg/ día.

1.3 Requerimientos nutricionales de cerdas lactantes

Durante la lactancia se deben llenar los elevados requerimientos nutricionales para la producción de leche, que permitan un desarrollo sostenido de los lechones (Weldom *et al*, 1994). Además, la cerda debe presentar celo de 3 a 7 días después del destete, para lograr conseguir una continuidad en la reproducción y producción de lechones (Shurson, 1994).

De acuerdo a Cortamira (1995), la cerda lactante produce de 5 a 7.5 kg de leche diariamente, durante un período de 35 días. Este proceso biológico provoca un gasto grande de energía, ya que la leche de la cerda muestra un alto contenido energético (1060 Kcal/kg, con 18% de materia seca).

Los requerimientos energéticos para mantenimiento de cerdas lactantes fueron calculados por Noblet (citado por Cortamira, 1995) como de 105 Kcal EM/kg

1.4 Composición química de los desperdicios de comedor

El desperdicio de comedor y cocina del restaurante contiene de 50 a 85 % de humedad. En base seca, estos desperdicios son altos en nutrientes y deseables para la alimentación del cerdo, con un contenido de 15-23%, PC; 17-24%, grasa y 3-6%, cenizas (Kornegay *et al*, 1970; Pond y Manner, 1984). El contenido de energía bruta 18.0 a 23.0 Mj/kg MS (Domínguez, 1991; Balazs, 1971); y 87.0 % en energía digestible (Balazs, 1971). Citado por Aguilar 2011.

Cuadro 1. Análisis químico del desperdicio de comedor y cocina utilizado en la alimentación de cerdos

Determinación (%)	Contenido	
Humedad	11.4	8.4
Proteína cruda	15.0	14.4
Grasa	13.8	16.0
Fibra cruda	10.3	14.5
Cenizas	5.8	4.7
Ca	.54	.63
P	.34	.38
K	.55	.80
Na	.35	.47
Lisina	.63	.64
Lisina disponible	.56	.53

Myers *et al.* (1999)

2. Valor nutricional de una dieta.

El valor nutricional de una dieta, alimento o nutriente para cerdos, se puede expresar mediante el coeficiente de digestibilidad, el cual es la proporción del alimento que no es excretada y por tanto se supone, ha sido absorbida. La digestibilidad de un alimento es inferior al 100%, ya que durante la absorción y asimilación se producen pérdidas de nutrientes (De Souza y Mariscal, 1997.).

2.1 Determinación del valor nutritivo de los alimentos

El valor nutritivo de un alimento no es más que la digestibilidad de un alimento, por tanto el valor nutritivo varía de acuerdo con la especie en estudio. En la producción porcina es muy importante la eficiencia con que son utilizados los alimentos, si se toma en cuenta que alrededor del 70% del costo de producción corresponde a los insumos de alimentos. A su vez la eficiencia en el aprovechamiento digestivo está estrechamente relacionada con rasgos de comportamiento tales como la ganancia diaria, el consumo diario de alimento y la conversión alimentaria (Dierick *et al*, 1985). Todo lo anterior es válido tanto para la alimentación convencional de cerdos como en la no convencional, siendo más útil en este último caso, cuando se trata de un nuevo alimento.

3. Importancia de la digestibilidad

La digestibilidad sirve para determinar la calidad de la dieta y de las materias primas utilizadas en ella, la disponibilidad de los nutrientes que las constituyen, la importancia que tienen estos en los animales, además sirve como soporte para el cálculo de los requerimientos nutricionales (Harmon, 2007).

La industria alimentaria muestra un creciente interés en el desarrollo de métodos In-Vitro para la determinación de la digestibilidad de fuentes alimentarias destinadas a los animales monogástricos de granja. Este interés está dado fundamentalmente porque estos métodos son menos costosos y más

rápidos que los métodos In-Vivo empleados tradicionalmente. Además, no se requiere de animales modificados quirúrgicamente, lo que salva el problema que podría representar esto, según la tendencia actual a favorecer el bienestar de los animales (Gonzalvo, 2001).

3.1 Digestibilidad

Se define como la fracción de un nutriente ingerido que es absorbido por el animal, es decir, que no es excretado. La digestión proteica empieza en el estómago con una desnaturalización significativa de las proteínas que realiza el HCL (ácido clorhídrico), al que le sigue la digestión péptica que es más activa a un pH bajo. Este proceso da por resultado la producción de péptidos grande y relativamente pocos AA'S (Aminoácidos esenciales). El contenido estomacal para el duodeno en donde es atacado por diversas enzimas pancreáticas, lo que produce una cantidad sustancial de AA'S libres (más del 60 % del contenido proteico) y oligopéptidos.

Estos últimos compuestos son absorbidos en forma directa por la mucosa intestinal donde son hidrolizados por acción de las peptidasas en AA'S y después transportados a la circulación portal. La tasa de absorción de AA'S no es uniforme si bien ello sucede en los dos tercios proximales del intestino delgado (Ávila y Sepúlveda, 2013)

3.2 Razones para estudiar la digestibilidad

La evaluación de la digestibilidad supone la determinación de que cantidad de un determinado nutriente o sustancia alimenticia desaparece del tracto digestivo, es decir que cantidad de material no se degrada ni se absorbe mientras pasa a través del animal. Es un aspecto muy importante en la utilización de los nutrientes, ya que los residuos no digeridos y las excreciones fecales asociadas con la digestión son la única pérdida de mayor relevancia en la utilización de los alimentos, llegando a ser cercano a 40% (Church, 1974).

Las pruebas de digestión se realizan para varios propósitos (Tobal, 1999):

- Evaluar la utilización de determinado nutriente, o de una ración.
- Establecer cuantitativamente el aporte de sustancias nutritivas digestibles.
- Determinar la digestibilidad en estudios experimentales.

3.3 Antecedentes históricos para determinar la digestibilidad

Históricamente la digestibilidad se midió por métodos directos; después se comenzó a medir por métodos indirectos y por último por métodos in situ. Igualmente, en sentido histórico, en función del avance de los estudios básicos y de cirugía del tracto digestivo del cerdo, se ha pasado, de experimentos de digestibilidad con animales intactos o preparados quirúrgicamente, para estudiar la digestión en distintas partes del tracto digestivo (Díaz, 2002).

Se comenzó por los estudios de digestibilidad In-Vitro para evaluar los procesos fermentativos del rumen, y posteriormente se han extendido esencialmente a simular la digestibilidad ileal o prececal, obteniendo la digestibilidad total y obteniendo por diferencia la digestibilidad In-Vitro del intestino grueso (Díaz, 2002).

En cerdos los métodos In-Vitro de digestibilidad comenzaron a usarse para simular la digestión ileal del nitrógeno y aminoácidos, fue de esta forma, porque en esta zona del tracto digestivo es donde se aprovechan verdaderamente los aminoácidos.

Los experimentos hechos con cerdos han demostrado que existe una buena correlación entre los métodos In-Vivo y los In-Vitro (Dierick *et al*, 1985; Boisen y Fernández, 1995).

3.4 Métodos para determinar la digestibilidad de la proteína en alimentos

La calidad nutritiva de las proteínas puede valorarse por métodos biológicos químicos o enzimáticos (Cerón, 2006).

3.4.1 Métodos biológicos

Se basan en la ganancia de peso o en la retención de nitrógeno en ensayos con animales experimentales alimentados con dietas que contengan la proteína a analizar. Estos métodos generalmente son caros y conllevan largas jornadas de trabajo (Cerón, 2006).

3.4.2 Métodos químicos

Se calcula el valor nutritivo de la proteína determinando su contenido de aminoácidos y comparando su riqueza en aminoácidos esenciales con la de proteína patrón ideal; generalmente se utiliza el patrón dado por la FAO (Cerón, 2006).

3.4.3 Métodos enzimáticos

Se basan en crear un medio muy similar al del organismo digiriéndose las proteínas con enzimas como la pepsina y la pancreatina o con una mezcla de tripsina, quimotripsina, y peptidasa intestinal porcina. Estos métodos tienen la ventaja de poder determinar la calidad de proteína en alimentos que han sido sometidos a algún proceso y son relativamente menos costosos que los métodos biológicos. Se ha demostrado que los métodos In-Vitro e In-Vivo tienen una correlación entre 0.9 y 0.99, respectivamente por lo que se recomienda utilizar los métodos In-Vitro en estudios nutricionales (Cerón, 2006)

3.4.4 Utilización del contenido intestinal del cerdo

La utilización del contenido intestinal de cerdo ofrece la posibilidad de simular “In-Vitro” y de forma tipo grafica los procesos digestivos que acontecen en el cerdo. Por la similitud en utilización de los alimentos estos pueden ser extrapolados a las aves (Marrero *et al*, 2015).

4. Tipos de digestibilidad.

Durante los últimos años, se han desarrollado varios métodos de laboratorio, para simular los procesos digestivos en animales de estómago simple. Estos incluyen los trabajos realizados por diversos autores (Furuya Sakamoto y Takahashi, 1979; Graham, Niwman y Newman, 1985; Lourren, Graham y Amos, 1992 y Lövren *et al*, 1992) que han utilizado “In-Vitro” el contenido del duodeno, yeyuno, íleon y recto del cerdo, para determinar la solubilización y aprovechamiento energético de las raciones para cerdo a través de dinámicas de incubación. Los resultados demostraron relaciones aceptables entre los métodos “In-Vitro” y las pruebas “In-Vivo”.

4.1 Digestibilidad In-Vivo

Se ha desarrollado un gran número de experimentos In-Vivo para medir la digestibilidad tanto ileal como fecal en una gran variedad de alimentos. Estos experimentos han mostrado una gran variación no solo entre diferentes tipos de alimentos, sino también entre diferentes muestras de un mismo alimento (Sauer y Ozimek, 1986).

La pobre reproducibilidad en estos ensayos está dada por la influencia en los resultados de la edad y las características propias de cada animal, condiciones en que vive, composición del alimento, entre otros.

4.2 Digestibilidad In-Vitro

Los métodos In-Vitro para medir la digestibilidad en cerdos son aquellos que simulan esencialmente la digestibilidad prececal o ileal, que se corresponde a la digestibilidad In-Vivo, enzimática, que ocurre en el estómago y el intestino delgado de los animales, y la fecal, que abarca todos los procesos digestivos que tienen lugar en el cerdo, o sea, la digestión enzimática y la microbiana, esencialmente radicada en el intestino grueso. En la digestibilidad In-Vitro prececal o ileal, se lleva a cabo en dos pasos, uno inicial con pepsina disuelta en ácido clorhídrico, imitando lo que ocurre en el estómago de los cerdos, y un segundo paso, en la que se suele emplear pancreatina, o extracto seco del páncreas porcino, disuelto en una solución amortiguadora de fosfato (Ly, 2007).

La técnica de digestibilidad In-Vitro ha demostrado ser una forma adecuada para determinar el valor nutritivo de recursos alimentarios de variada índole con vistas a ser usados en nutrición porcina. (Dierick *et al.*, 1985; Metz y Van der Meer, 1985; Vervaeke *et al.*, 1985; Löwgren *et al.*, 1993; Boisen y Fernández, 1995).

El método de digestibilidad In-Vitro de acuerdo a un gran número de trabajos, predice digestibilidad In-Vivo con alto grado de precisión (Clard y Mott, 1960; Tilley y Terry, 1963; citados por Lascano, 1990).

Los métodos In-Vitro poseen la ventaja de ser simples. Además, permiten evaluar un gran número de muestras al mismo tiempo y a un menor costo (Boisen y Fernández, 1995)

4.2.1 Disponibilidad Ileal de proteínas In-Vitro

La digestión proteica no debe considerarse simplemente como una reacción enzimática que rompe enlaces peptídicos liberando aminoácidos. Hay que considerar una serie de factores que pueden influir en la digestión de la proteína y que determinan en su conjunto la obtención de producto final determinado. La utilización de una proteína está gobernada por diversos

factores que actúan aun antes de que el alimento sea consumido como son, su origen grado de procesamiento y la presencia simultánea de otros ingredientes (Savoie, 1991).

En los ensayos de digestibilidad ileal, realizados In-Vitro se han usado diferentes preparaciones enzimáticas con diferentes resultados. La selección de las enzimas proteolíticas es un factor muy importante porque la naturaleza de la enzima está relacionada con su acción específica sobre la proteína e influye en la composición de los productos finales de la digestión (Gonzalvo, 2001).

Se han propuesto para evaluar la digestibilidad y disponibilidad de las proteínas hidrólisis enzimáticas, usualmente por procesos de uno o dos pasos. En los ensayos de un paso se ha usado: pepsina (Sheffner *et al*, 1956), tripsina (Maga *et al* 1973), papáina (Buchanan, 1969) y una combinación de tripsina, quimiotripsina y peptidasa (Hsu *et al*, 1977)

Los ensayos en dos pasos han considerado en una predigestión péptica de las proteínas seguida por hidrólisis por pancreatina (Mauron *et al*, 1955; Akeson y Stahman 1975), tripsina (Saunders *et al*, 1973), o fluido intestinal de cerdo (Furuya *et al* 1979). El fluido intestinal puede preservarse al menos por un periodo de dos meses sin cambios en su actividad y esta es mantenida cuando es liofilizado y reconstituido en agua por lo que no es necesario mantener un animal proveedor en cada laboratorio (Furuya,1980).

Se recomienda realizar ensayos de dos pasos pues la predigestión péptica parece facilitar la acción de las enzimas pancreáticas (Camus y Laporte, 1980).

La concentración de pepsina de 0.2% recomendada por la Asociación de Químicos Analíticos oficiales (1984) es excesiva y puede digerir casi completamente proteínas de pobre calidad. Por lo tanto se recomienda trabajar con una concentración de 0.002% con lo que los valores de nitrógeno digestible se reducen sustancialmente pudiéndose establecer marcadamente la diferencia entre muestras estando además los valores de digestibilidad obtenidos altamente correlacionados con los estimados de eficiencia proteica y la

utilización neta de la proteína (Johnston y Coon, 1979). Además los valores de N digestible determinados con esta concentración están mejor correlacionados con la digestibilidad de la lisina y por tanto indican mejor las diferencias en la digestibilidad de los aminoácidos (Parsons, 1990).

La concentración, el pH y la temperatura de incubación son fijados de acuerdo con los requerimientos enzimáticos. La digestión péptica generalmente se lleva a cabo a 37°C en solución de ácido clorhídrico a pH de aproximadamente 2. Con enzimas pancreáticas se prefiere usar un tampón de fosfato ajustado a pH cercano a la neutralidad (Mauron et al, 1955; Akesson y Stahman, 1964; Stahman y Woldegiorgis, 1975) excepto para los métodos basados en la medida de los cambios de pH que ocurren durante la digestión donde se usan soluciones no tamponadas o amortiguadas.

Se recomienda además el uso de pequeños volúmenes de muestra, pues así se minimizan el espacio y las cantidades de enzimas requeridas. Además, se sugiere moler las muestras a tamaño de partícula inferior a 3 mm para una predicción razonable de la digestibilidad In-Vivo especialmente en el caso de muestras de baja digestibilidad inicial y de textura gruesa (Furuya *et al*, 1979).

III. MATERIALES Y MÉTODOS

Ubicación del área de estudio

El presente estudio se realizó en el Laboratorio de Nutrición Animal de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, ubicada en Buenavista, Saltillo, Coahuila. Su ubicación se encuentra en las coordenadas 25° 21' Latitud Norte y 101° 02' Latitud Oeste, a una altura 1,743 msnm. Se tiene una precipitación de 298.5 mm como media anual, y una temperatura media anual de 18.8°C. El clima está dentro de la clasificación de seco o árido (González, 2015).

Características del desperdicio de comedor y cocina

Al comedor universitario asisten alrededor de 2200 estudiantes a consumir sus alimentos a medio día. De este comedor se extrajeron los sobrantes de cocina, los cuales fueron sometidos a un proceso de deshidratación, para posteriormente ser mezclado con alimento concentrado, del cual se extrajo una muestra, para ser analizados en el laboratorio, determinando el porcentaje de digestibilidad In-Vitro de proteína, contenida en cada una de las muestras.

Estos residuos son de comida humana, que generalmente contienen tortillas, frijoles, huesos, pan, frutas, legumbres, verduras y arroz.

Tratamientos y análisis estadístico

Se evaluó el desperdicio de comedor y cocina más un concentrado para la etapa de lactación de la cerda, formando tres tratamientos con 2 repeticiones. Cada repetición considerada una unidad experimental. El T1 (100:0) Concentrado: desperdicio de comedor y cocina (C:DCCD) ; T2 90:10 (C:DCCD); y T3, 80:20 (C:DCCD).

Metodología

Se recopilaron los desperdicios de cocina provenientes del comedor principalmente de la comida que se suministra a medio día, la hora de la comida. Se sometieron a un proceso de secado solar durante 24 horas para eliminar el contenido de humedad. Posteriormente los desperdicios fueron sometidos a fuego en un contenedor para deshidratar completamente los residuos. Los cuales fueron triturados con un molino, convirtiéndolos en una especie de harina.

La harina resultante de los desperdicios de cocina, fue mezclada con un alimento comercial para la etapa de lactación en un concentrado de 90:10 C: DCCD, 80:20 C:DCCD.

Digestibilidad In-Vitro a través del método de Furuya

La muestra de C:DCCD se sometió a una digestión intestinal y posteriormente a una digestión química seguida por una digestión con pepsina acida. La primera digestión equivale a la digestión gástrica y la segunda digestión a la que se efectúa en el intestino delgado.

MATERIALES

1. Molino de cuchillas con criba de 1mm
2. Tubos de polietileno de 120 mm x 40 mm de diámetro tapados con una válvula bunsen acondicionada
3. Baño con temperatura controlada a 37°C
4. Papel
5. Termo para transportar el fluido intestinal.

REACTIVOS

1. HCl al 0.075 N
2. Pepsina
3. NaOH al 0.10 N
4. Inoculante.- Fluido intestinal de cerdo.

PROCEDIMIENTO

1. Pesar dentro del tubo de 100 ml 0.5 g de muestras
2. Separar los tubos que servirán de blancos
3. Adicionar 20 mg de pepsina y 10 ml de HCl 0.75 N
4. Incubar a 37°C durante 4 horas
5. Pasado este tiempo, centrifugar de 2000 a 3000 r.p.m. por 10 minutos y decantar.
6. Adicionar 10 ml de fluido intestinal y 2 ml de NaOH a los tubos y volver a incubar durante 4 horas
7. Pasado este tiempo, centrifugar de 2000 a 3000 r.p.m. por 10 minutos y tirar el sobrenadante
8. Después de la incubación filtrar el contenido del tubo a través de un papel filtro previamente pesado y secado a 50°C
9. Lavar con agua destilada enjuagando el tubo, para que no quede muestra adherida al tubo
10. Retirar el papel filtro con el residuo y llevarlo a la estufa para secarlo y pesarlo
11. Calcular el porcentaje de digestibilidad In-Vitro.

CALCULOS

- Fórmula para determinar porcentaje de digestibilidad (Furuya, 1991):
- $(1 - (R/S)) * 100$
- Donde:
- R= Peso de papel con muestra – peso de papel solo.
- S= Peso de la muestra 0.5g.

Determinación de proteína a través del método de Kjeldahl

El termino o adjetivo de bruto o cruda, es para indicar que son determinaciones de entidades químicas puras, además se obtiene otros compuestos que no son estrictamente proteínas.

Se les denomina proteína cruda, porque no solo se determinan proteínas sino también compuestos nitrogenados que no son estrictamente proteínas.

El principio básico de este método se basa en la conversión del nitrógeno de las sustancias nitrogenadas en amonio.

MATERIAL Y EQUIPO

- Matraz Kjeldahl de 800 ml.
- Aparato de digestión y destilación Kjeldahl.
- Matraz Erlenmeyer de 500 ml
- Bureta
- Ácido sulfúrico 0.1 N
- Hidróxido de sodio 45 %
- Ácido bórico de 4 %
- Indicador Mixto
- Agua destilada
- Mezcla de selenio
- Perlas de vidrio
- Ácido sulfúrico concentrado.
- Balanza analítica
- Equipo Kjeldahl
- Material usual de laboratorio.

PROCEDIMIENTO

1. Agregar los papeles con muestras de la digestión anterior en un matraz de digestión Kjeldahl.
2. Agregar 4 perlas de vidrio, 10 g de selenio, 0.5 g de sulfato cúprico y 20 ml de ácido sulfúrico concentrado.
3. Conectar el matraz a la trampa de absorción que contiene 250 ml de hidróxido de sodio al 15 %.
5. Enfriar y agregar 300 ml de agua destilada.
6. Conectar el matraz al aparato de destilación, agregar lentamente 100 ml de NaOH al 30 %.
7. Destilar 250 ml en un matraz que lleve sumergido el extremo del refrigerante o tubo colector.
8. Titular con H₂SO₄ con una normalidad de 0.101522842.

4. Calentar en manta calefactora y una vez que la solución esté transparente, dejar en ebullición 15 a 20 min. Destilar 250 ml en un matraz que lleve sumergido el extremo del refrigerante tubo Colector en: 50 ml de una solución de ácido sulfúrico 0.1 N, 4 a 5 gotas de rojo de metilo.

CÁLCULOS

- Formula:

$\%N = ((\text{ml ácido sulfúrico gastado en la muestra} - \text{ml ácido sulfúrico gastados en el blanco})) \times 0.014 \times \text{normalidad del ácido} / \text{g de muestra} \times 100.$

$\% \text{ Proteína} = \%N \times 6.25$

IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En el cuadro 2, se muestran los valores de la digestibilidad In-Vitro de materia seca (DIV/MS) encontrados en la presente investigación para cada uno de los diferentes tratamientos con inclusión de desperdicio deshidratado de comedor C:DCCD (100:00, 90:10, 80:20), en el cual se aprecia que los valores se encuentran en un rango de 70.52% y 85.78% en cuanto al porcentaje de digestibilidad. Teniendo una media de 79.27%.

De acuerdo al análisis estadístico se puede apreciar que hay diferencia significativa en los tratamientos, en cuanto a la digestibilidad de materia seca, obteniendo una $F > P$ ($5.1818 > 5.14$) ver anexos.

Cuadro 2. Porcentaje de digestibilidad de materia seca de tres alimentos con inclusión de desperdicio deshidratado comedor y cocina

Repeticiones	T1 100% C	T2 90-10% C:DCCD	T3 80-20% C: DCCD
R1	79.92	80.76	81.28
R2	70.52	77.36	85.78
R3	75.22	79.06	83.53
Promedio	75.22	79.06	89.47

En cuanto a la digestibilidad el T3 (C:DCCD, 80:20) fue el que presentó el porcentaje más alto, obteniendo en promedio un 89.47% de digestibilidad.

El cuadro 3 muestra los valores del porcentaje de proteína contenidas en el alimento antes de someterse al proceso de digestibilidad.

Los coeficientes de digestibilidad de proteína que se muestran en el cuadro 3 de los diferentes tratamientos se encuentran en un rango de 6.76% y 10.33%.

Cuadro 3.- Análisis de proteína antes de digestibilidad In-Vitro

Repeticiones	T1 100% C	T2 90:10% C:DCCD	T3 80:20% C:DCCD
R1	19.00	22.15	19.95
R2	20.89	21.00	19.74
R3	20.58	22.36	19.84
Promedio	20.15	21.83	19.84

En el cuadro 4 se muestran los valores del porciento de proteína después de la digestibilidad del alimento..

Cuadro 4.- Porcentaje de Proteína después de la digestibilidad In-Vitro para la etapa de Lactación

Repeticiones	T1 100% C	T2 90:10% C:DCCD	T3 80-20% C:DCCD
R1	9.57	6.76	10.33
R2	8.82	9.76	8.63
R3	9.25	8.29	9.44
Promedio	9.20	8.26	9.48

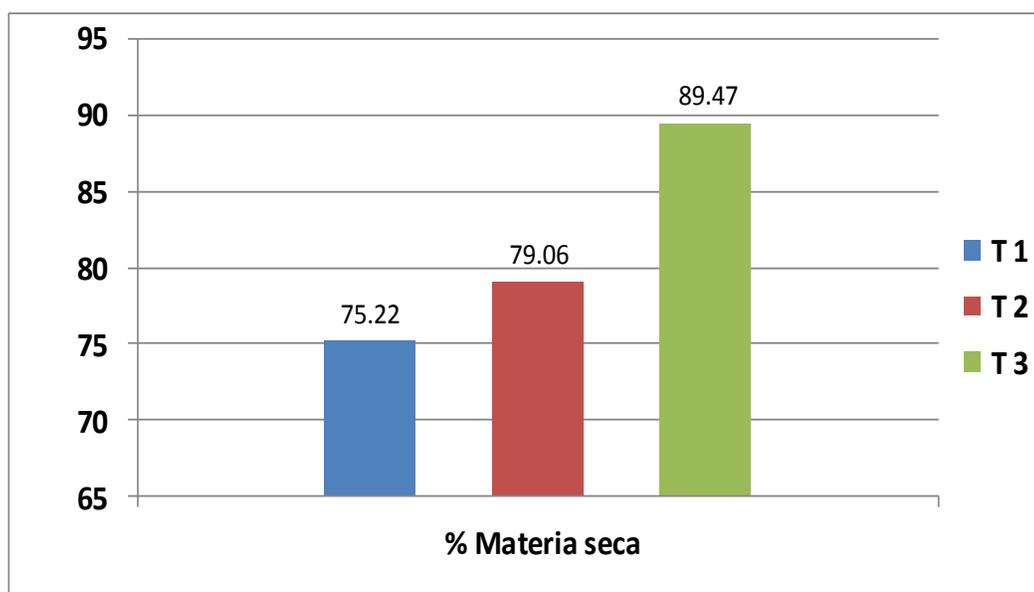


Ilustración 2- Porcentaje de digestibilidad de Materia Seca

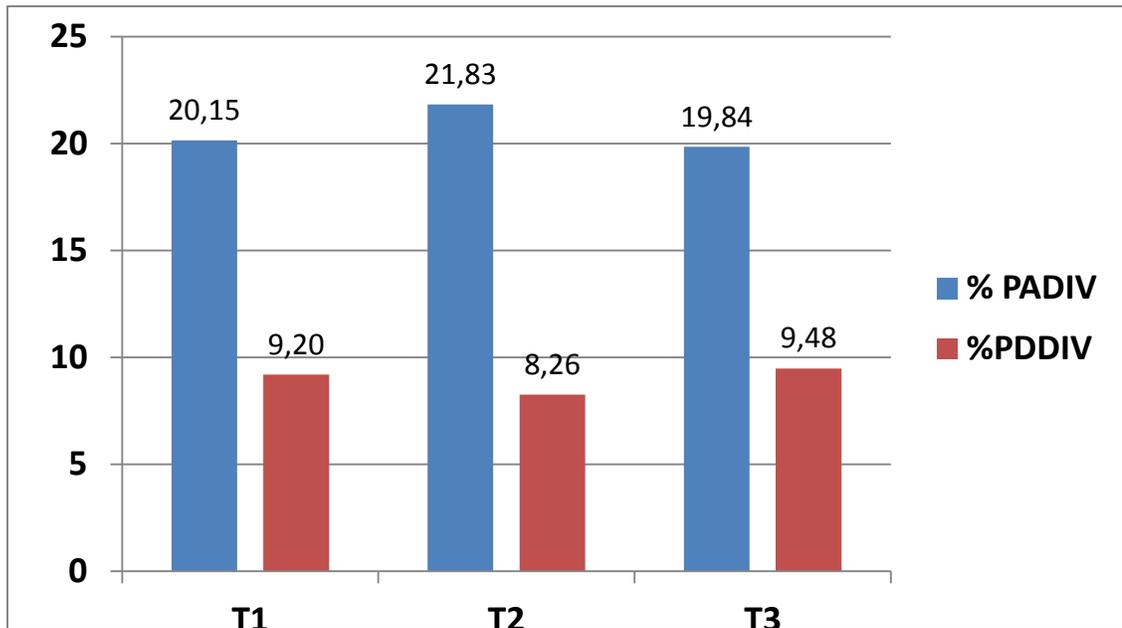


Ilustración 2 - Porcentaje de Proteína antes de la digestibilidad (PADIV) y después de la digestibilidad In-Vitro (PDDIV).

Los valores que demuestran la mayor asimilación y aprovechamiento de digestibilidad se pueden apreciar en el tratamiento 3 (T3 80:20 C:DCCD) obteniendo un valor medio de 9.48% de restante de proteína al someterse al método de digestibilidad que es equivalente a un aprovechamiento de proteína en un 10.36%. Como se muestra en la Ilustración 3.

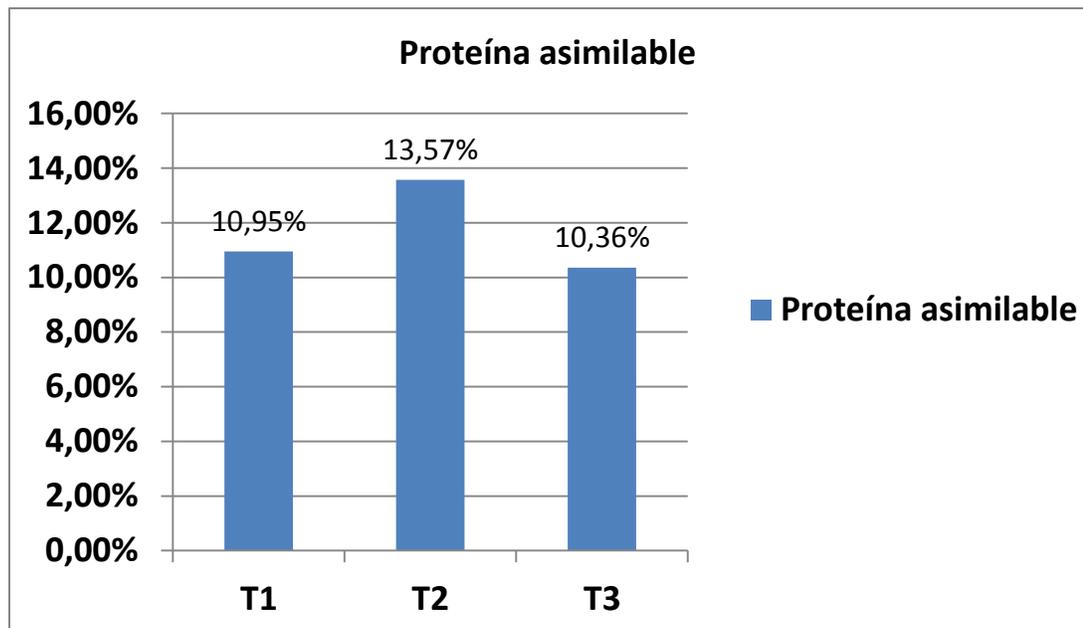


Ilustración 3- Porcentaje de Proteína asimilable

De acuerdo al análisis estadístico se puede apreciar que no hay diferencia significativa en los tratamientos, en cuanto al contenido de proteína después de la digestibilidad $F < P$ ($0.3039 < 5.14$) ver anexos.

En investigación realizada con un alimento base más la inclusión de forraje de batata (AB+FB) en tratamientos T_1 100% (AB), T_2 90%+10%, T_3 80%+20%, T_4 70%+30%, comprobándose que tiene un buen nivel de digestibilidad de proteína, lo cual conlleva a que puede sustituir hasta un 30 % de la dieta (Díaz *et al*, 2011).

En esta investigación se sustituyó hasta un 20% de la dieta pudiéndose llevar hasta un 30% en la sustitución en la dieta teniendo un buen nivel de digestibilidad de proteína.

V. CONCLUSIÓN

La cantidad de desperdicio de comedor y cocina incrementa el contenido de proteína de las dietas probadas en los tratamientos T2 y T3, así como se ve reflejado la degradación de la proteína después de la digestibilidad en ambos tratamientos, al igual se observa una variación en el porcentaje de digestibilidad de materia seca.

Concluyendo que la cantidad de desperdicio del comedor y cocina deshidratada presentes en la dieta incrementa en el contenido de proteína antes y después de la digestibilidad In-Vitro.

VI. LITERATURA CITADA

- Aguilar, A. B. 2011. Desempeño, desarrollo corporal y evaluación sanguínea de lechones de traspatio alimentados con desperdicio de comedor y cocina/ Composición química. Tesis licenciatura en Ingeniero agrónomo Zootecnista. Junio. Coahuila México. P 5-7
- Ávila J., Sepúlveda H. 2013. Nutrición de no rumiantes. Maestría en Zootecnia. UAAAN. Saltillo Coahuila México.
- Boisin, S. y Fernández, J.A. 1995. Estandarización de un método In vitro para la predicción del nitrógeno digestible en ingredientes de dietas para cerdos, Revista Cubana de Ciencia Agrícola; Instituto de ciencia Animal, Cuba. V35 (N4) p373.
- Buchanan, R. A. 1969. Métodos para la determinación de la digestibilidad in vitro de alimentos para animales monogástricos/ Digestibilidad de ileal de proteínas in vitro. Revista computarizada. V8(N2) p 10.
- Cerón, A. 2006. Determinación de la digestibilidad "In vitro" de la proteína, contenido de fitatos y lisina disponible en variedades criollas de maíz del estado de Hidalgo. Pachuca. p 21.
- Church, D.C. 1974. Evaluación de los alimentos a través de los diferentes, métodos de digestibilidad. Pag 95-96.
- Comus, M.C. y Laporte J.C. 1980 Métodos para la determinación de la digestibilidad in vitro de alimentos para animales monogástricos/ Digestibilidad de ileal de proteínas in vitro. Revista computarizada. V8(N2) p10.
- Cortamina, O. 1995 Consumo voluntario de alimento y comportamiento productivo de cerdas lactantes de acuerdo al nivel de alimentación durante la gestación. Tesis de Maestría en ciencia en Producción Animal Abril, 1997. Marín, N.L. p5.

- Díaz et al, 2011. Determinación de la digestibilidad ileal de nutrientes del follaje de batata (*Ipomea batatas* (L.) Lam.) En cerdos. Universidad Central de Venezuela. Facultad de Agronomía, Macaracay.
- Díaz, C. 2002. Árboles forrajeros en la alimentación del cerdo. Métodos de evaluación. Revista computarizada. Instituto de Investigaciones Porcinas. V9 (N2). p12-14.
- Dierick, N., Nervaeké I., Decupeyre J. y Henderckx H. 1985. Nutrición animal. Estudios de digestión in vitro de semillas de la palma real (*Roystonea regia* H.B.K. cook) y el coco (*Cocos nucifera* L.) para cerdos. Instituto de Investigaciones porcinas. Habana Cuba. V40 (N4) p227.
- Dierick, N., Vervaeke, I., Decupeyre, J., y Hederickx. H. 1985. Árboles forrajeros en la alimentación del cerdo. Métodos de evaluación Revista computarizada de Producción Porcina. Punta Brava, la Habana, Cuba. 2002, V9 (N2). p11 y 14.
- Ecured, 2013. Cerdo doméstico (en línea). http://www.ecured.cu/index.php/Cerdo_dom%C3%A9stico
- Fondevila, M. y Barrios A. 2001. Digestibilidad in vitro (fecal) de *Mucuna deerigiana*, Revista computarizada de Producción porcina. Instituto de ciencia Animal. Apartado 24. San José de las Lajas, Cuba. V18(N4) p298.
- Fraga, M. J. 1985. Alimentación de los animales Monogástricos. Institutud National de la Recherche Agronomique. Francia edición MDI-PRENSA. Madrid. P 23
- Furuya et al, 1979. Métodos para la determinación de la digestibilidad in vitro de alimentos para animales monogástricos/ Digestibilidad de ileal de proteínas in vitro. Revista computarizada. Instituto de Investigaciones Porcinas. V8(N2) p10.

- Furuya, S. 1980. Métodos para la determinación de la digestibilidad in vitro de alimentos para animales monogástricos/ Digestibilidad de ileal de proteínas in vitro. Revista computarizada. V8 (N2) p10.
- Furuya, S., Sakomoto K.y Takahasi, S. 1979. Métodos prácticos para estudios digestivos y metabólicos en especies monogástricas. Instituto de Ciencia Animal, La Habana, Cuba. p1.
- Furuya, S., Skamoto, K. y Tokahasi. 1979. Métodos para la determinación de la digestibilidad in vitro de alimentos para animales monogástricos/ Digestibilidad de ileal de proteínas in vitro. Revista computarizada. V8 (N2) p10.
- Getachew, G., Blümmel M., Makkar,H. y Becker k. 1998 Digestibilidad in vitro (fecal) de *Mucuna deerigiana*, Revista computarizada de Producción porcina. Instituto de ciencia Animal. Apartado 24. San José de las Lajas, Cuba. V18(N4) p298.
- Gonzalvo S. 2001. Métodos para la determinación de la digestibilidad in vitro de alimentos para animales monogástricos. Revista computarizada. V8(N2) p 6 y 10.
- Harmon, D. 2007 Metodologías para determinar la digestibilidad de los alimentos utilizados en la alimentación canina. Artículo de revisión. Universidad de Caldas, Programa de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Manizales, Colombia. P88
- Hsu, H.W., Vavak, D.L., Satterlee, L.D. y Miller, G.A. 1977. Métodos para la determinación de la digestibilidad in vitro de alimentos para animales monogástricos/ Digestibilidad de ileal de proteínas in vitro. Revista computarizada. V8(N2) p10.

Johnston, J. y Coon, C.N. 1979. Métodos para la determinación de la digestibilidad in vitro de alimentos para animales monogástricos/ Digestibilidad de ileal de proteínas in vitro. Revista computarizada. V8(N2) p10.

Johnston, L.J., Pettigre J.E. y Rust J.W. 1993. Consumo voluntario de alimento y comportamiento productivo de cerdas lactantes de acuerdo al nivel de alimentación durante la gestación. Tesis de Maestría en ciencia en Producción Animal. Abril. Marín, N.L. p 6

Lascano, C. E. et al., 1990. Evaluación de los alimentos a través de los diferentes métodos de digestibilidad. p 108.

Ly, J. 2007. Las pruebas de digestibilidad en la evaluación nuevos recursos alimentarios para cerdos. X Encuentro de Nutrición y Producción en Animales Monogástricos, Montevideo, Uruguay, 2007. p 44.

Maga. J.A., Lorenz K. y Oreyemi O. 1973. Métodos para la determinación de la digestibilidad in vitro de alimentos para animales monogástricos/ Digestibilidad de ileal de proteínas in vitro. Revista computarizada. V8(N2) p10.

Marrero A.I., Savón L., Savón y Ajete A. 2015. Métodos prácticos para estudios digestivos y metabólicos en especies monogastricas. Instituto de Ciencia Animal, La Habana, Cuba. p4.

Mauron, J., Bujard, E. y Egli R.H. 1955. Métodos para la determinación de la digestibilidad in vitro de alimentos para animales monogástricos/ Digestibilidad de ileal de proteínas in vitro. Revista computarizada. V8(N2) p 10.

Morilla, G. A., Estrada S.E, Diosdado V.F., 2000 desarrollo corporal y evaluación sanguínea de lechones de traspatio alimentados con desperdicio de comedor. Tesis de licenciatura en Ingeniero Agrónomo Zootecnista. Junio. Coahuila, México. p 5.

- NRC, 1988. Consumo voluntario de alimento y comportamiento productivo de cerdas lactantes de acuerdo al nivel de alimentación durante la gestación. Tesis de Maestría en ciencia en Producción Animal. Abril. Marín, N.L. p 6.
- Osejo, N., 2015. Residuos alimenticios en la dieta del cerdo. Economía la prensa Noticias. Nicaragua. p1.
- Parsons, C.M., 1990. Métodos para la determinación de la digestibilidad in vitro de alimentos para animales monogástricos/ Digestibilidad de ileal de proteínas in vitro. Revista computarizada. V8(N2) p11.
- Reis de Souza, T.C. y Mariscal L.G. 1997. Importancia de la utilización de diferentes técnicas de digestibilidad en la nutrición y formulación porcina. Revisión de literatura. Universidad Nacional de Colombia. P 2.
- Rivas, M. E., B Brendemuhl J.H., Myer R.O., Johnson D. D. Desempeño, desarrollo corporal y evaluación sanguínea de lechones de traspatio alimentados con desperdicio de comedor y cocina. Tesis licenciatura. UAAAN, Buenavista, Saltillo, Coahuila, México, Junio. p 4.
- Sanginés, L., Grande, D., Carmona J., Suárez B., Ramos F., Cassis L., Domínguez P.L. 2015. . Potencial de la producción porcina con residuos de consumo humano. Instituto Nacional de la Nutrición " Salvador Zubirán. Vasco de Quiroga No.15, Col. y Delegación Tlalpan, México DF. p 1.
- Sauer y Ozimek 1986. Cp. Gonzalvo Sofiyé. Métodos para la determinación de la digestibilidad in vitro de alimentos para animales monogástricos. Instituto de Ciencia Animal. Revista computarizada. 2001, V8 (N2) p 8.
- Saunders, R.M., Connor, M.A., Booth, A.N., Bickoff; E.M. y Kohler, G.O. 1973. Measurement of digestibility of alfalfa protein concentrates by in vivo and in vitro methods. Journal of Nutrition, 103:530-535 p.

Savoie, L., 1991. Métodos para la determinación de la digestibilidad in vitro de alimentos para animales monogástricos. Revista computarizada porcina. Instituto de Investigaciones Porcinas. La Habana, Cuba.V8(N2) p 9.

Sheffner, A.L., Eckfeldt, G.a. y Spector, H. 1956. Métodos para la determinación de la digestibilidad in vitro de alimentos para animales monogástricos/ Digestibilidad de ileal de proteínas in vitro. Revista computarizada. V8(N2) p 10.

Shimada M. A. 2003. Ed. Trillas, México. Reimpresión 2012. Nutrición Alimentación de cerdos. 2ª. Edición. p 240.

Shurson, J. 1994 Consumo voluntario de alimento y comportamiento productivo de cerdas lactantes de acuerdo al nivel de alimentación durante la gestación. Tesis de Maestría en ciencia en Producción Animal Abril, 1997. Marín, N.L. p 11.

Tobal C.F. 1999. Evaluación de los alimentos a través de los diferentes métodos de digestibilidad disponible en línea. pag. 96.
<http://www.biblioteca.unlpam.edu.ar/pubpdf/anuavet/n1999a16tobal.pdf>

UNA y IFS. 2015. Economía la prensa Noticias. Nicaragua Residuos alimenticios en la dieta del cerdo. p 4.

Weldon, W.C., Lewis A.J., Lois G.F., Kovar L.J., Giesemann y Miller P.S. 1994. Consumo voluntario de alimento y comportamiento productivo de cerdas lactantes de acuerdo al nivel de alimentación durante la gestación. Tesis de Maestría en ciencia en Producción Animal. Abril. Marín, N.L. p 10

ANEXOS

Análisis de varianza del porcentaje de digestibilidad de Materia seca.

	GI	SC	CM	F	P<F
Tratamiento	2	103.7826	51.8913	5.1818	5.14
Error	6	60.0847	60.0847		
Total	8	163.8673			

Comparación de medias del Porcentaje de digestibilidad de Materia seca.

Tratamiento	Media
T1	75.22
T2	79.06
T3	89.47

Análisis de varianza del Porcentaje de Proteína después de la digestión In-Vitro

	GI	SC	CM	F	P>F
Tratamiento	2	2.190	1.095	0.3039	5.14
Error	6	21.617	3.603		
Total	9	23.807			

Comparación de medias del porcentaje de Proteína después de la digestión In-Vitro

Tratamiento	Media
T1	9.20
T2	8.26
T3	9.48