

**1era Ed.
2025**



**PUERTO MADERO
EDITORIAL**

VALORACIÓN NUTRICIONAL A PARTIR DE LA COMPOSICIÓN QUÍMICA Y PRUEBAS DE DIGESTIBILIDAD DE ALIMENTOS ECUATORIANOS PARA RUMIANTES



**HERNAN PATRICIO GUEVARA COSTALES,
DANNY PATRICIO GUEVARA NOBOA,
SANDRA ELIZABETH LOPEZ SAMPEDRO,
JOHAN DE BOEVER**



puertomaderoeditorial.com.ar



La Plata - Argentina

Valoración Nutricional a partir de la Composición Química y pruebas de digestibilidad de alimentos ecuatorianos para Rumiantes

AUTORES: Hernan Patricio Guevara Costales, Danny Patricio Guevara Noboa,
Sandra Elizabeth Lopez Sampedro, Johan De Boever

ISBN: 978-631-6557-53-7



Valoración Nutricional a partir de la Composición Química y pruebas de digestibilidad de alimentos ecuatorianos para Rumiantes

Autores

Hernan Patricio Guevara Costales,
Danny Patricio Guevara Noboa,
Sandra Elizabeth Lopez Sampedro,
Johan De Boever



Valoración nutricional a partir de la composición química y pruebas de digestibilidad
de

alimentos ecuatorianos para rumiantes / Hernán Patricio Guevara Costales ... [et al.].

-

1a ed. - La Plata : Puerto Madero Editorial Académica, 2025.

Libro digital, PDF/A

Archivo Digital: descarga y online

ISBN 978-631-6557-53-7

1. Nutrición. 2. Química Agrícola. 3. Alimentación del Ganado. I. Guevara Costales,
Hernán Patricio
CDD 372.373



Licencia Creative Commons:

Atribución-NoComercial-SinDerivar 4.0 Internacional (CC BY-NC-SA 4.0)



Primera Edición, Abril 2025

**Valoración Nutricional a partir de la Composición Química y pruebas de digestibilidad
de alimentos ecuatorianos para Rumiantes**
ISBN: 978-631-6557-53-7

Editado por:

Sello editorial: ©Puerto Madero Editorial Académica
N° de Alta: 933832

Editorial: © Puerto Madero Editorial Académica
CUIL: 20630333971
Calle 45 N491 entre 4 y 5
Dirección de Publicaciones Científicas Puerto Madero Editorial Académica
La Plata, Buenos Aires, Argentina
Teléfono: +54 9 221 314 5902
+54 9 221 531 5142
Código Postal: AR1900

Este libro se sometió a arbitraje bajo el sistema de doble ciego (peer review)

Corrección y diseño:

Puerto Madero Editorial Académica
Diseñador Gráfico: José Luis Santillán Lima

Diseño, Montaje y Producción Editorial:

Puerto Madero Editorial Académica
Diseñador Gráfico: Santillán Lima, José Luis

Director del equipo editorial: Santillán Lima, Juan Carlos

Editor: Santillán Lima, Juan Carlos

Hecho en Argentina
Made in Argentina

AUTORES:

Hernan Patricio Guevara Costales

Escuela Superior Politécnica del Chimborazo. Ecuador

hguevara@esPOCH.edu.ec

 <https://orcid.org/0000-0002-3324-1201>

Danny Patricio Guevara Noboa

Investigador independiente -BioMar (Denmark). Ecuador.

dannyguevara83@yahoo.es

 <https://orcid.org/0009-0009-9972-7544>

Sandra Elizabeth López Sampedro

Escuela Superior Politécnica del Chimborazo. Ecuador

salopez@esPOCH.edu.ec

 <https://orcid.org/0000-0003-0209-2087>

Johan De Boever

Instituut voor Landbouw-, Visserij- en Voedingsonderzoek. Bélgica

johan.deboever@ilvo.vlaanderen.be

 <https://orcid.org/0000-0002-7073-630X>

INDICE

AGRADECIMIENTO	xvii
DEDICATORIA	xviii
PROLOGO	xix
CAPITULO 1	1
1 VALORACIÓN DE ALIMENTOS	1
1.1 HISTORIA DE LA VALORACIÓN DE ALIMENTOS PARA ANIMALES	4
1.2 SISTEMAS DE VALORACIÓN DE ALIMENTOS	10
1.2.1 SISTEMA N.R.C (NATIONAL RESEARCH COUNCIL)	10
1.2.2 SISTEMA INRA (INSTITUT NATIONAL DE LA RECHERCHE AGRONOMIQUE)	12
1.2.3 SISTEMA CNCPS (CORNELL NET CARBOHYDRATE AND PROTEIN SYSTEM)	13
1.2.4 SISTEMA DANÉS DE VALORACIÓN DE ALIMENTOS	14
1.2.5 SISTEMA A.R.C. (AGRICULTURAL RESEARCH COUNCIL)	15
1.2.6 SISTEMA C.V.B. (CENTRAL BUREAU FOR LIVESTOCK FEEDING)	16
1.2.7 SISTEMA BRASILEÑO	17
1.2.8 SISTEMA FEDNA	18
1.2.9 MÉTODOS DE ANÁLISIS OFICIALES	18
1.3 LOS ALIMENTOS Y SU COMPOSICIÓN	19
1.3.1 FUENTES ENERGÉTICAS	24
1.3.2 FUENTES PROTEICAS	24
1.3.3 ALIMENTOS FIBROSOS	25
1.3.4 MINERALES	25
1.3.5 OTROS PRODUCTOS	26
1.4 COMPOSICIÓN DE LOS ALIMENTOS PARA CONSUMO ANIMAL.	26
1.5 MÉTODOS DE EVALUACIÓN.	27
1.5.1 MÉTODOS QUÍMICOS	32
1.5.2 PRUEBAS FÍSICAS	35
1.5.3 PRUEBAS BIOLÓGICAS	46
1.1. PRUEBAS MICROBIOLÓGICAS	53
1.5.4 ANÁLISIS SENSORIAL O PRUEBAS ORGANOLEPTICAS	56
1.6 VALORACION ENERGÉTICA DE LOS ALIMENTOS.	57
1.7 REQUERIMIENTOS ENERGETICOS	59
1.7.1 METABOLISMO ENERGÉTICO BASAL	61
1.7.2 METABOLISMO DE AYUNO	62
1.7.3 ENERGÍA NETA DE MANTENIMIENTO	64
1.7.4 ENERGÍA NETA PARA PRODUCCIÓN	64
1.7.5 ENERGIA DEL ALIMENTO	65
1.8 VALOR DE LA PROTEINA	75

1.9	VALORACIÓN PROTEICA DE LOS ALIMENTOS	80
1.9.1	REQUERIMIENTOS PROTEICOS DE LOS ANIMALES	84
1.9.2	PROTEINA IDEAL PARA MONOGASTRICOS	88
1.9.3	PROTEINA METABOLIZABLE (PM) O PROTEINA DIGESTIBLE EN EL INTESTINO (PDI) PARA RUMIANTES	92
1.9.4	PROTEINA DE LOS ALIMENTOS	99
1.10	FUTURO DE LA VALORACIÓN DE LOS ALIMENTOS	103
CAPÍTULO 2		108
2	EL MUESTREO	108
2.1	OBJETIVOS DEL MUESTREO	112
2.1.1	SELECCIÓN DEL PROCEDIMIENTO DE MUESTREO	114
2.1.2	CLASES DE TOMA DE MUESTRAS	116
2.1.3	MÉTODOS O TIPOS DE MUESTREO	117
2.1.4	MUESTREOS NO PROBABILISTICOS	127
2.2	PLAN DE MUESTREO	130
2.3	TOMA DE MUESTRAS	132
2.4	TAMAÑO DE LA MUESTRA	133
2.5	LA METODOLOGÍA DE MUESTREO	136
2.5.1	MUESTREO EN ALIMENTOS LÍQUIDOS Y SIMILARES	136
2.5.2	MUESTREO DE PASTOS Y/O FORRAJES EN PRADERAS	136
2.5.3	MUESTREO DE ENSILAJES	140
2.5.4	MUESTREO DE FORRAJE HENIFICADO	143
2.5.5	MUESTREO DE RAÍCES Y TUBÉRCULOS	146
2.5.6	MUESTREO DE GRANOS Y CONCENTRADOS	147
2.5.7	MUESTREO EN ALIMENTOS LIQUIDOS Y SIMILARES	150
2.5.8	MUESTREO DE GRASAS Y ACEITES	150
2.5.9	MUESTREO DE MATERIAL BIOLÓGICO	151
2.6	PREPARACIÓN DE LAS MUESTRAS	152
2.6.1	MOLIENDA DE LAS MUESTRAS	152
2.6.2	PRESERVACIÓN O CONSERVACION DE LA MUESTRA	153
2.6.3	IDENTIFICACIÓN DE LAS MUESTRAS	154
2.6.4	ENVÍO DE MUESTRAS	157
CAPÍTULO 3		159
3	COMPOSICIÓN QUÍMICA	159
3.1	Introducción	159
3.2	Calidad en los análisis químicos.	161
3.3	CLASIFICACIÓN DE LOS MÉTODOS DE ANÁLISIS	163
3.3.1	ANÁLISIS FÍSICO-QUÍMICO:	163

3.3.2	ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO: _____	164
3.3.3	ANÁLISIS SENSORIAL: _____	164
3.4	MÉTODOS DE ANÁLISIS _____	164
3.5	VALIDACIÓN DE MÉTODOS _____	165
3.5.1	EXACTITUD Y MUESTRAS DE REFERENCIA _____	167
3.6	TABLAS DE COMPOSICIÓN DE LOS ALIMENTOS _____	169
3.6.1	ANÁLISIS PROXIMAL, ESQUEMA DE WEENDE O ANÁLISIS INMEDIATO DE LOS ALIMENTOS _____	170
3.7	PROCEDIMIENTOS ANALÍTICOS DEL ANÁLISIS PROXIMAL _____	174
3.7.1	DETERMINACIÓN DE LA HUMEDAD O MATERIA SECA _____	174
3.7.2	HUMEDAD "INICIAL" O "TAL COMO OFRECIDO" _____	179
3.7.3	HUMEDAD "HIGROSCÓPICA" O "PARCIAL" _____	182
3.7.4	HUMEDAD TOTAL _____	184
3.7.5	EXTRACTO ETÉREO _____	196
3.7.6	FIBRA CRUDA _____	205
3.8	PROCEDIMIENTOS PROPUESTOS POR LA FAO _____	216
3.8.1	DETERMINACIÓN DE MATERIA SECA (FAO) _____	217
3.8.2	CENIZAS _____	219
3.8.3	NITRÓGENO Y PROTEÍNA BRUTA _____	221
3.8.4	EXTRACTO ETÉREO _____	224
3.8.5	FIBRA CRUDA _____	226
3.9	TABLAS DE COMPOSICIÓN NUTRICIONAL DE DIFERENTES MUESTRAS DE FORRAJES, MATERIAS PRIMAS Y ALIMENTOS ECUATORIANOS. LABORATORIO DE NUTRICIÓN ANIMAL Y BROMATOLOGÍA FCP-ESPOCH _____	229
3.10	ANÁLISIS DE LAS PAREDES CELULARES (ESQUEMA DE VAN SOEST) _____	237
3.11	PROCEDIMIENTOS ANALÍTICOS DE LA PARED CELULAR (ESQUEMA DE VAN SOEST) _____	242
3.11.1	FIBRA NEUTRA DETERGENTE (F.D.N.) _____	242
3.11.2	DETERMINACIÓN DE FIBRA DETERGENTE NEUTRA MÉTODO ANKOM _____	247
3.11.3	DETERMINACIÓN DE LA FIBRA ÁCIDO DETERGENTE (FAD) _____	250
3.11.4	DETERMINACIÓN DE FIBRA DETERGENTE ÁCIDA MÉTODO ANKOM _____	255
3.11.5	LIGNINA ÁCIDA DETERGENTE (LA.D.) MÉTODO ANKOM _____	262
3.11.6	DETERMINACIÓN DE CENIZAS INSOLUBLES EN ÁCIDO (A.I.A.) _____	264
3.12	PROCEDIMIENTOS ESTANDARIZADOS (FAO) _____	266
3.12.1	DETERMINACIÓN DE FIBRA NEUTRO DETERGENTE (FND) - MÉTODO DE FILTRACIÓN _____	266
3.12.2	DETERMINACIÓN DE FIBRA DETERGENTE ÁCIDA (ADF) Y LIGNINA (ADL) - MÉTODO DE FILTRACIÓN _____	269
3.13	TABLAS DE COMPOSICIÓN DE ALIMENTOS, CONCENTRADOS PARA LA ELABORACIÓN DE BALANCEADOS, HENOS DE PASTOS DE CLIMA TEMPLADO Y CLIMA TROPICAL POR EL ESQUEMA VAN SOEST _____	272

3.14	ANÁLISIS DE LOS ALIMENTOS POR ESPECTROSCOPIA DE REFLECTANCIA DE INFRAROJO CERCANO (NIRS)	276
3.14.1	FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA	277
3.14.2	ANTECEDENTES HISTÓRICOS	279
3.14.3	CALIBRACIÓN NIRS	279
3.14.4	ASPECTOS FUNDAMENTALES	280
3.14.5	APLICACIONES DEL NIRS EN EL ANÁLISIS DE ALIMENTOS	281
CAPITULO 4		283
4	DIGESTIBILIDAD	283
4.1	INTRODUCCIÓN	283
4.2	Historia	284
4.3	Relación de la digestibilidad y energía útil de los alimentos	285
4.4	DIGESTIBILIDAD APARENTE VERSUS REAL	287
4.4.1	MÉTODOS PARA DETERMINAR EL COEFICIENTE DE DIGESTIBILIDAD APARENTE	291
4.4.2	MÉTODOS CON ENSAYOS IN VIVO PARA DETERMINAR LA DIGESTIBILIDAD POR RECOLECCIÓN DE HECES.	293
4.5	PRUEBAS DE DIGESTIBILIDAD EN RUMIANTES	295
4.5.1	EXPERIMENTO DE DIGESTIBILIDAD <i>IN VIVO</i> POR COLECCIÓN TOTAL DE HECES EN JAULAS METABÓLICAS.	295
4.5.2	MANEJO DE LOS ANIMALES PARA ENSAYO	296
4.5.3	NIVELES DE CONSUMO PARA LAS PRUEBAS	297
4.6	PROCEDIMIENTO FCP ESPOCH PARA LA DETERMINACIÓN DE LA DIGESTIBILIDAD SIMPLE	298
4.6.1	PRUEBAS DE DIGESTIBILIDAD	300
4.6.2	EJEMPLO DE PROCESAMIENTO DE LOS DATOS	301
4.7	Pruebas de Digestibilidad In Vivo con marcadores	336
4.7.1	TIPOS DE MARCADORES	337
4.7.2	EFFECTO DE LA COMPOSICIÓN DE LOS ALIMENTOS SOBRE LA DIGESTIBILIDAD	342
4.7.3	DIGESTIBILIDAD " <i>IN VITRO</i> " FLUIDO RUMINAL	345
4.8	EQUIVALENCIAS DE UNIDADES PARA PREDICCIÓN DE DIGESTIBILIDAD	352
4.8.1	1 VEM	352
4.8.2	6.904 KJOUL	352
4.8.3	0,239 MCAL	352
4.8.4		352
4.9	Digestibilidad "In Situ"	354
4.9.1	DETERMINACIÓN DE LA DIGESTIBILIDAD " <i>IN SITU</i> "	355
4.9.2	TÉCNICA ENZIMÁTICA PARA DETERMINAR LA DIGESTIBILIDAD <i>IN VITRO</i> .	360
4.9.3	DETERMINACIÓN DE LA DIGESTIBILIDAD ENZIMÁTICA <i>IN VITRO</i> POR CELULASA	361

4.10	Técnica <i>In vitro</i> de producción de gases	367
4.11	VARIACIONES EN LAS ECUACIONES DE PREDICCIÓN EN DIFERENTES DIETAS	370
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICA		376
DE LOS AUTORES		407
	Hernan Patricio Guevara Costales	407
	Danny Patricio Guevara Noboa	408
	Sandra Elizabeth Lopez Sampedro	409
	Johan De Boever	410
ANEXOS		411

AGRADECIMIENTO

La realización de este libro representó un desafío que demandó años de esfuerzo, investigación y el apoyo invaluable de diversas personas e instituciones. En primer lugar, agradezco al **Creador del Universo** por otorgarme la fortaleza y las habilidades necesarias para completar este proyecto.

Mi más profunda gratitud a la **ESPOCH**, donde inicié mi formación académica, así como a la **Universidad de Ghent** y al **Instituto de Investigación de Agricultura, Pesca y Alimentación de Flandes (ILVO)**, por contribuir significativamente a mi desarrollo intelectual.

Un especial reconocimiento a los investigadores y coautores de este libro: **Ing. Danny Guevara, M.Sc., Dra. Sandra López, M.Sc. e Ing. Johan De Boever, Ph.D.**, por su compromiso y dedicación en cada etapa de este proyecto.

Agradezco también a mis mentores, **Dr. Juan Wauters y Dra. Francoise De Cupere, Ph.D.**, por su guía y apoyo constante. Asimismo, extendiendo mi gratitud a mis profesores: **Ing. Ronald De Wilde, Ph.D., Ing. Johan De Boever, Ph.D., Ir. Daniel De Brabander, Ph.D., Ir. Geert Janssens, Ph.D., Ir. José Vanacker, Martine Maertens, Herman De Rycke** y a todos los profesionales del **ILVO** y del **Departamento de Nutrición Animal de la Universidad de Ghent**, cuyo conocimiento y acompañamiento fueron fundamentales para alcanzar este logro.

Mi reconocimiento también se extiende a las instituciones que brindaron su apoyo financiero y logístico, confiando en esta investigación y facilitando los recursos necesarios para su desarrollo: **Rijksstation Voor Veevoeding (R.V.V.) de Bélgica, FUNDACYT, SENESCYT** y la **ESPOCH de Ecuador**.

Finalmente, un agradecimiento especial a los colaboradores que formaron parte de esta investigación: **Dra. Ana Chafla, Ing. Paulina Abraján, Ing. Nicolas Janeta, Ing. María Fernanda Baquero, Ing. Yolanda Heredia y Ing. Mario Toainga**, por su esfuerzo y compromiso en cada fase del proyecto.

A todos ustedes, mi más sincero agradecimiento por ser parte de este camino y contribuir al éxito de esta obra.

DEDICATORIA

Este libro está dedicado en dos dimensiones: una desde el aspecto espiritual, sentimental y familiar, y otra desde una perspectiva técnico-científica.

Desde el corazón, dedico esta obra **a mi esposa**, quien ha estado a mi lado en cada paso de este camino, brindándome su apoyo incondicional, incluso en los momentos más difíciles. **A mis hijos**, por ser fuente constante de amor, inspiración y felicidad. **A sus compañeros de vida**, por compartir junto a ellos cada logro y cada desafío. **A mis nietos**, que representan la luz y la esperanza de un futuro lleno de posibilidades.

Este libro también está dedicado a todos los que contribuyen al desarrollo de la producción pecuaria: **ingenieros zootécnicos, agropecuarios, agroindustriales, médicos veterinarios, estudiantes de ciencias pecuarias, ganaderos y productores agropecuarios**. A quienes valoran el conocimiento y desean fortalecer la educación y la investigación en producción animal, sin importar su condición socioeconómica, nacionalidad o edad. Porque sembrar conocimiento desde temprano es garantizar un futuro más próspero para el sector.

PROLOGO

El avance de la ciencia en el campo de la valoración de alimentos, nutrición y alimentación animal ha ido a galope demasiado lento, a pesar de los esfuerzos de los científicos y técnicos por resolver en forma eficiente los grandes problemas de los sistemas de producción pecuaria, hay que considerar que en la alimentación se encuentran los costos más altos, para el caso específico de bovinos de leche y carne representan entre el 55 al 75%. No se ha realizado grandes logros debido a muchos factores entre los que se puede mencionar por un lado la complejidad de estas ciencias, por otro lado a la variabilidad de los sistemas digestivos de las diferentes especies animales, así como también la individualidad existente entre animales a pesar de ser de una misma especie, raza, edad, sexo, etc., que no ha permitido establecer exactamente los requerimientos de nutrientes y de esta manera sostener las diferentes etapas productivas del animal. Depende además del aprovechamiento de nutrientes por parte del animal, de la oferta nutritiva de la inmensa gamma de alimentos que están a disponibilidad de los animales y de la capacidad de ingestión en cuanto a la cantidad que deberían consumir de materia seca, siendo estos tres parámetros los decisivos en un eficiente sistema de alimentación animal. Esta relación de desequilibrio en el avance de las ciencias se establece si consideramos los grandes logros a pasos agigantados en otras áreas del saber dentro del campo pecuario como por ejemplo la genética en donde se ha llegado a la clonación; y en el caso de la reproducción aplicada en donde se tiene como práctica común la inseminación artificial y la transferencia de embriones.

En países denominados de primer mundo la mayor fuente de alimentación del ganado son los ensilajes, sea de maíz, de gramíneas de ciclo corto o de pulpa de remolacha y concentrados; sistemas de alimentación que han sido desarrollados por tener las cuatro estaciones y que han creado métodos de valoración de los alimentos y el establecimiento de los requerimientos nutritivos con la única finalidad de ajustar lo más cerca posible estos requerimientos a las verdaderas necesidades de las diferentes especies y categorías animales. Estos países han venido trabajando desde el siglo 19, en los tres parámetros citados anteriormente y se han encontrado con la existencia de importantes diferencias en otros grupos de alimentos. Estas diferencias son debidas bien a la naturaleza de las muestras, bien

al efecto de los posibles tratamientos tecnológicos utilizados para su obtención o bien a las características de la dieta suministrada a los animales. Las diferencias son más elevadas en el caso de los forrajes. En consecuencia, la utilización de un valor único de digestibilidad intestinal para estos grupos de alimentos, como es usual en los sistemas actuales de valoración, no es una práctica adecuada, por lo que se tendrá que seguir investigando para encontrar un sistema optimo, sencillo y barato de valoración de alimentos para rumiantes y lo cual se verá reflejado en un eficiente sistema de nutrición y alimentación animal.

El problema es mucho más complejo en el Ecuador que posee dos estaciones no muy bien definidas: invierno y verano y una gran variabilidad de ecosistemas, lo que hace que sea una país muy rico en flora, donde los pastos y forrajes son la fuente de alimentación más barata, cultivos cada vez diferentes en cuanto a calidad ya que los técnicos en material genético para consumo animal han desarrollado nuevas variedades de plantas; de mayor persistencia, resistentes por ejemplo a las plagas y enfermedades, a las variaciones bruscas de temperatura, etc.. Todo esto se suma al mal manejo que la mayoría de nuestros ganaderos y/o campesinos someten a pastoreo a sus animales, en general se acostumbra a un pastoreo tardío, en donde se considera el volumen y no la calidad del alimento, sin meditar que a mayor edad de la planta cambia el valor nutritivo de las especies y por ende la composición química de las mismas. Por otro lado, ninguna institución pública o privada a realizado la valoración de los alimentos para consumo animal y lo que máximo se ha alcanzado es a determinar parte de la composición química de los mismos, por desconocimiento de su importancia y a veces equivocadamente se ha considerado que es un gasto infructuoso y no una inversión.

La presente obra es un compendio con aspectos básicos y de desarrollo científico en el amplio campo de la valoración de alimentos para ganado tanto de carne como de leche, partiendo desde la composición química, pasando por la determinación de la energía aprovechable a partir de pruebas de digestibilidad in vivo, así como también de pruebas in vitro fluido ruminal, celulasa, el actual análisis de las Cenizas Insolubles en Acido (A.I.A por sus siglas en ingles), así como la producción de gas.

Hemos realizado todo el esfuerzo posible para que profesionales con conocimientos básicos de las ciencias agropecuarias estén en capacidad de interpretar aspectos interesantes de la

valoración de alimentos para rumiantes. Nos daremos por satisfechos que quién tenga en sus manos este texto lo revise detenidamente y llegue a la conclusión que tiene una guía que en cualquier momento le va a servir para resolver algunas de las inquietudes dentro de estos tan hermosos y difíciles campos de la valoración de alimentos, nutrición y alimentación animal. Este es el primer paso que se está dando a nivel nacional, esperando que este primer esfuerzo realizado se traduzca en que todas las instituciones de educación superior relacionadas con las producciones pecuarias y los institutos de investigación, sigamos investigando sobre estos tópicos para algún día poder desarrollar verdaderos centros de producción ganaderos.

En el capítulo I hacemos una pequeña introducción a los principales sistemas de valoración de alimentos animales, sus principales diferencias y similitudes, su historia, su situación actual y su proyección hacia el futuro.

En el capítulo II aborda el proceso del muestreo, describiendo sus objetivos y la importancia de seleccionar procedimientos adecuados. Se analiza los distintos métodos de muestreo, tanto probabilísticos como no probabilísticos. También se expone como determinar el tamaño de muestra adecuado para garantizar resultados representativos.

El capítulo III nos referimos a la composición química de los alimentos, los métodos para determinarla (Weende, Van Soest), las normas para el muestreo adecuado y análisis que se pueden realizar.

El capítulo IV trata sobre la digestibilidad aparente de los alimentos en rumiantes, estimados ya sea mediante pruebas in vivo con ovinos, o mediante métodos de laboratorio: In vitro fluido ruminal e In vitro celulasa.

“No creas en nada solo porque una persona sabia lo ha dicho

No creas en nada solo porque es una creencia generalmente aceptada

No creas en nada solo porque se lo menciona en los libros antiguos

No creas en nada solo porque se le atribuye un origen divino

No creas en nada solo porque alguien más lo cree

Cree solo en lo que tú puedes probar y juzgar que es verdad.”

BUDA

CAPITULO 1

1 VALORACIÓN DE ALIMENTOS



Figura 1. Análisis de alimentos.

(Manterola et al. 1999); (Bravo, J. 2006) definen el valor de un alimento como su capacidad para aportar los nutrientes necesarios que permiten sustentar los requerimientos de mantención y producción. Los factores que determinan el valor nutricional de un alimento son múltiples, sin embargo, dentro de este concepto deben considerarse para estimar la respuesta animal (Colombatto, D. 2003). (Cozzolino, 2002) complementa que este parámetro, en el aspecto productivo debe ser medido en términos del nivel de producción de leche, carne, lana, huevos, entre otros.

(Pirela M. 2005); (De Dios, G. 2012) mencionan que la capacidad de los alimentos para garantizar las exigencias nutritivas de los animales como el mantenimiento, crecimiento y reproducción se conoce como valor nutritivo de los alimentos. Es necesaria ya sea para valorar el coste entre los piensos o para evaluar los posibles niveles de producción y las estrategias de importación y exportación de alimentos (Ribeiro, J.M. & Moreira, O.M., 2000).

La calidad de un alimento esta determinada por el valor nutricional y finalmente por la productividad de los animales (Wiseman, J. & Cole, D.J.A. 1990) para predecir el desempeño de los animales de granja se requiere sistemas de evaluación de alimentos que generen la información necesaria para formular dietas de óptima calidad. Los sistemas de evaluación de los alimentos deberían ser simples, pero que este requerimiento está en gran conflicto con la

precisión de predicción de las respuestas sobre un amplio rango de variación de las raciones y un modelo correcto de los implícitos procesos fisiológicos de los animales de granja.

Para alimentar un animal de manera eficiente, se requiere conocer la composición nutricional del alimento y los requerimientos para una producción esperada. El valor nutritivo se debe expresar en las mismas unidades, que se utilizan para determinar los requerimientos. (Dieter Hess, H. 1998); (Carbajal, A., 2013) añaden que el conocimiento de la composición es fundamental para la preparación de dietas, pues simplifica y ayuda extraordinariamente en la elección de material alimentario.

La evaluación de los alimentos aporta a los nutricionistas la información necesaria para formular una dieta desde el punto de vista fisiológico y económico, con vistas a optimizar la productividad del animal (Pedraza, R., 2001);(Martínez, S., 2005). Es también importante para garantizar la calidad de productos formulados comercialmente (concentrados energéticos o proteicos)e incluso detectar la posible presencia de sustancias indeseables que se encuentren presentes en los alimentos, las cuales pueden afectar la salud animal o humana.



Figura 2. Material energético.

Por su lado (Méndez, L., 2020) menciona que, la valoración de alimentos es un aspecto esencial que está relacionada con el conocimiento tanto de los componentes químicos de los alimentos como de las reacciones que conducen a los cambios en su constitución y en sus características. Para (Theodorou, M.K., *et. al.* 1994), las características nutritivas de deberán mejorar de manera continua, debido a:

- a) Los avances en biología molecular, particularmente el desarrollo de plantas transgénicas.
- b) Los programas de mejoras de cosechas.
- c) Las limitaciones ecológicas y económicas relacionadas con el uso y/o vertimiento de los residuos y subproductos de las cosechas.

(Ramos, A., 2013) indica que los nutrientes son necesarios para que los animales de producción tengan una respuesta que se manifieste en una máxima eficiencia productiva y que la calidad de los alimentos es indudablemente variable dependiendo de sus características, las cuales son independientes de su composición química.

(Cozzolino, D. 2002), señala que la calidad de los alimentos depende de distintos factores, por ejemplo, en el caso de forrajes, del estado de madurez al momento de corte y del contenido de humedad en el caso de alimentos concentrados o raciones, del tipo de proceso industrial y/o del almacenamiento. La importancia del valor nutritivo de los mismos en la producción animal fue reconocida sólo a partir del desarrollo del sistema proximal de análisis en Alemania. Los esfuerzos para mejorar el valor nutritivo a través de la mejora genética son relativamente recientes. (Morán, L., et al., 2015) concluye, que estos métodos son utilizados para evaluar el estado nutricional del animal y sirven de base para la elaboración de guías, recomendaciones nutricionales y planes productivos.

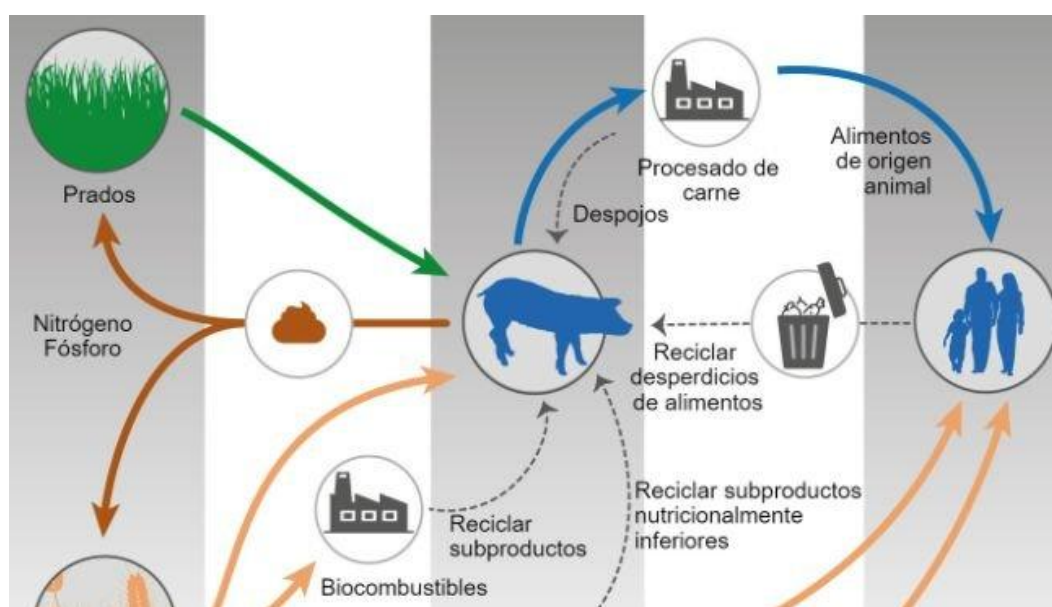


Figura 3. Alimentación animal de precisión.

1.1 HISTORIA DE LA VALORACIÓN DE ALIMENTOS PARA ANIMALES



Figura 4. Alimentación animal.

(Picallo, A., 2009) se sabe que la evaluación de los alimentos existió desde un punto de vista sensorial, considerando que el hombre y los animales elegían sus alimentos, buscando un efecto agradable y estable. Sin embargo (Shimada, A., 2003) sugiere que las necesidades fundamentales del hombre a través de su desarrollo evolutivo e histórico, ha sido la adecuada procuración de alimentos, como ejemplo de ello basta mencionar que civilizaciones antiguas tan sobresalientes como la maya en Mesoamérica, parecen haber desaparecido por problemas de sobrepoblación y la consecuente falta de alimentos. (Parsi, G., et al., 2001) cita que en la actualidad el procesamiento de alimentos para el hombre se origina de numerosos subproductos los cuales pueden ser también destinados a la alimentación animal.

(Morán et al., 2015), indica que probablemente, el primer experimento dietético, del que existe constancia documental, se encuentra en la historia bíblica de Daniel, que tuvo lugar 600 años a. C. Por su lado (Lowenberg, W 1970), hace referencia que, por lo que conocemos, Hipócrates fue el primero en modificar los conceptos antiguos respecto a los alimentos; pero se hubo de esperar hasta el comienzo de la era cristiana para iniciar el método experimental. Galeno, médico griego (130 a 200 d. C), a través de experimentos en animales y disecciones en cadáveres humanos, dedujo que el estómago era el lugar en que los alimentos se fragmentaban en partículas suficientemente pequeñas para absorberse.

Sin embargo, durante los siguientes diez siglos después de su muerte se hicieron muy pocos progresos en este campo. Sanctorius (1561-1636), médico italiano, estuvo varias semanas registrando su propio peso, el de los alimentos que tomaba y el de todos los productos de excreción del cuerpo.

A partir de aquí, se comenzaron a realizar progresos en medicina; William Harvey (1578-1657), demostró la circulación de la sangre; el francés René Réamur (1683-1757) demostró la digestión como proceso químico y la existencia del ácido en el jugo gástrico, el ruso Pedro Iván Pavlov (1849-1936), publicó su trabajo “Lecturas sobre el trabajo de las glándulas digestivas”.

La química evolucionó a grandes pasos durante el siglo XIX, se identificó el jugo gástrico como ácido clorhídrico, y la presencia de otro agente responsable del proceso de disolución de los alimentos, la enzima pepsina (1835). Según Salas, J. *et. al*, (2005) otro de los avances imprescindibles en el mundo de la nutrición fue el descubrimiento del metabolismo. En el siglo XVIII, Antoine Lavoisier fue el primero en medir el metabolismo en el ser humano, cuyos trabajos fueron continuados por científicos ilustres de la talla de Liebig, Voit y Rubner. Sus experimentos proporcionaron las bases para entender los procesos metabólicos que ocurren en el cuerpo humano y esto le valió el título de padre de la nutrición.

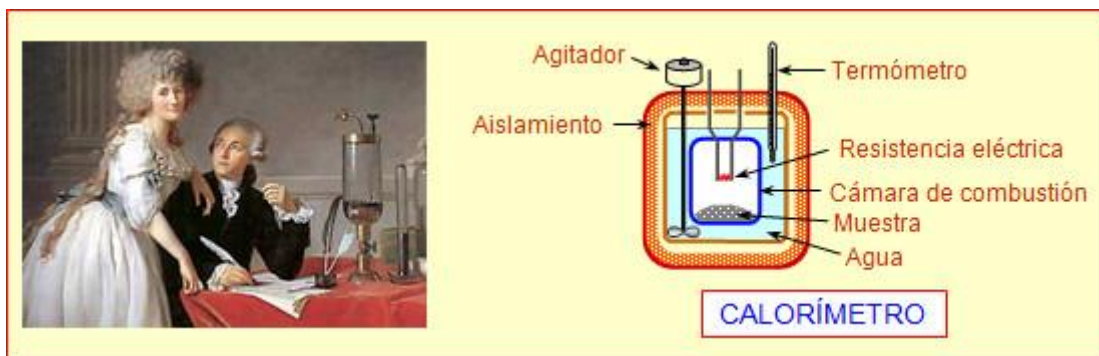


Figura 5. Proceso metabólico según Lavoisier.

Es el mismo (Lowenberg, W 1970) que manifiesta que a comienzos del siglo XIX se conocían tres clases de materias alimenticias:

- Sacáridos
- Oleaginosos

- Albuminosos

Los mismos elementos que posteriormente se llamaron hidratos de carbono, grasas y proteínas. Ya a mediados del siglo XIX, se comenzaron a estudiar con sentido mucho más crítico y a indagar cómo se formaban en el cuerpo, de dónde provenían y si eran o no necesarios en la alimentación. También comienza a investigarse sobre los minerales (hierro, calcio y fósforo) así como sobre las vitaminas, cuya historia es probablemente la más larga, aunque haya sido el último grupo de nutrientes en estudiarse.

Los métodos de laboratorio para estimar el valor nutritivo de los alimentos se han mejorado desde las primeras ideas en 1725, cuando los alimentos para rumiantes eran evaluados como Unidades de Paja (Blaxter, 1986). Por su lado (Wiseman, J. & Cole, D.J.A. 1990), hace referencia que en la historia de la evaluación de los alimentos desde que Albert Thaer (1752-1828) introdujo el concepto de equivalentes heno como una medida del valor relativo basado en la determinación de los materiales de los alimentos extraídos con agua (y otros solventes), el análisis de Weende de los piensos, desarrollado por Henneberg y Stohmann (1864) en el siglo XIX, ha sido importante en la descripción de los alimentos.

En los últimos 40 años, nuevos métodos de análisis han mejorado la descripción de componentes fibrosos, carbohidratos, proteínas y lípidos. Sin embargo, en el siglo anterior, los científicos ya se habían dado cuenta de que la información de las pruebas de alimentación y el análisis químico de los alimentos no era suficiente para comprender el metabolismo energético y que las pérdidas de energía deberían medirse con mayor precisión.

(Church, 1996) cita que la ciencia de la valoración de alimentos ha progresado rápidamente en las últimas décadas, en parte debido al amplio esfuerzo de investigación que se ha hecho para saber más acerca de esta ciencia, el aumento de conocimientos y la mejor comprensión de los requerimientos nutricionales y del metabolismo de los nutrimentos han sido posibles en parte a que se desarrollan nuevos métodos en forma continua y mejoran la evaluación cuantitativa del contenido nutrimental de los alimentos y tejidos animales. Inicialmente, las técnicas fueron diseñadas para caracterizar el valor nutritivo más que para predecir la producción de los animales. De particular relevancia es la predicción del consumo, el cual es un importante aspecto relacionado con el uso de los forrajes, en la práctica, la predicción del

consumo de forrajes aún presenta dificultades (Blümmel, M., *et. al.*, 1997). Para (Ruiz, R. 2000) el factor zootécnico individual que más influye en el valor nutritivo de los alimentos y en la productividad de los animales es el consumo.

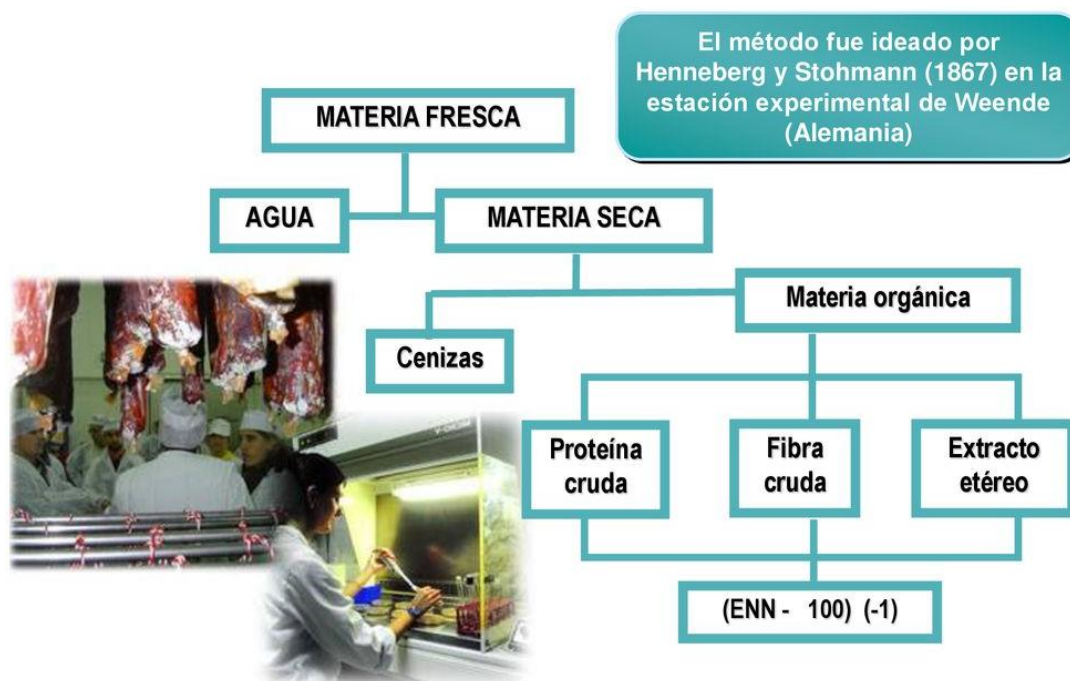


Figura 6. Evaluación de los alimentos *Análisis de Weende*.

La mejoría de los métodos de evaluación de alimentos tiene que seguir los nuevos conceptos de la química y la fisiología animal, así como los nuevos conocimientos de la microbiología del rumen y otros campos afines del saber. El desarrollo futuro de los sistemas de evaluación debe incorporar nueva información de la relación entre los productos finales de la digestión y la producción de los animales, así como información del metabolismo animal y microbiano, la composición de los alimentos y el efecto de los factores de la utilización de alimentos (Flatt, 1988). Por lo tanto, un adecuado análisis dietético de cualquier tipo necesita que los métodos empleados identifiquen los componentes químicos con la clasificación nutritiva (Van Soest y Robertson, 1985).



Figura 7. Métodos de análisis para la digestibilidad.

(Wiseman, J. & Cole, D.J.A. 1990), menciona que el punto de partida de los modernos sistema de evaluación de los alimentos es el análisis proximal y su procedimiento alternativo para la fibra bruta. (Goering & Van Soest, 1970), así como modernos métodos instrumentales (absorción atómica con inducción de plasma, espectroscopia cercana al infrarrojo, electroforesis, microscopia electrónica); la prueba de solubilidad de la proteína, la técnica de digestibilidad in vitro (Tilley, J. & Terry, R. 1963), el método enzimático (Jones, D. & Hayward, M., 1975), la técnica de simulación del rumen, RUSITEC (Czerkawski, J. & Brekenridge, G. 1977), así como la técnica de producción de gas in vitro (Menke, K & Steingass, H 1988). Hoy, la técnica de la bolsa en rumen o in sacco es posiblemente el método más utilizado, a pesar de que se le han señalado algunos inconvenientes (Michalet, B. & y Ould-Bah, M. 1992).

En los últimos años se retoman y desarrollan con vigor técnicas de evaluación de alimentos que no impliquen daños a la integridad física de los animales y que de forma relativamente rápida y barata brinden resultados fiables. Tal es el caso de la identificación de derivados del metabolismo animal, básicamente de purinas, excretados en la orina para cuantificar la producción microbiana en el rumen (Chen, X y Gomes, M. 1995) o el uso de los alcanos

como marcadores para estimar las proporciones de plantas consumidas por los animales (Mayes, R. W, 1993).

Se destacan también algunas técnicas *in vitro* para valorar la digestibilidad intestinal de los alimentos (Stern, M. *et al.*, 1997). Muchas de estas técnicas se encuentran aún en desarrollo y perfeccionamiento y están igualmente sujetas al reto de representar, lo más fielmente posible, en el laboratorio, aquellos procesos que involucran a los animales en su interacción con los alimentos. Por su lado (Alvarez, D., 2009) revela que las pruebas de digestibilidad *in vitro* han sido desarrolladas desde los años sesenta y aunque se encuentran muchos métodos de digestibilidad, las cuatro mayores técnicas hasta hoy utilizadas por los nutricionistas son la de (Tilley, J & Terry, R, 1963), el método de (Menke, K. *et al.* 1979), método de producción de gas de (Theodorou, M. *et al.* 1994), y el método de digestibilidad *in situ* en bolsas de nylon (Mehrez, A., y Orskov, E., 1977). Todos estos procedimientos simulan la digestibilidad del tracto digestivo de los rumiantes, con periodos de incubación similares y utilizando como inóculo líquido ruminal.

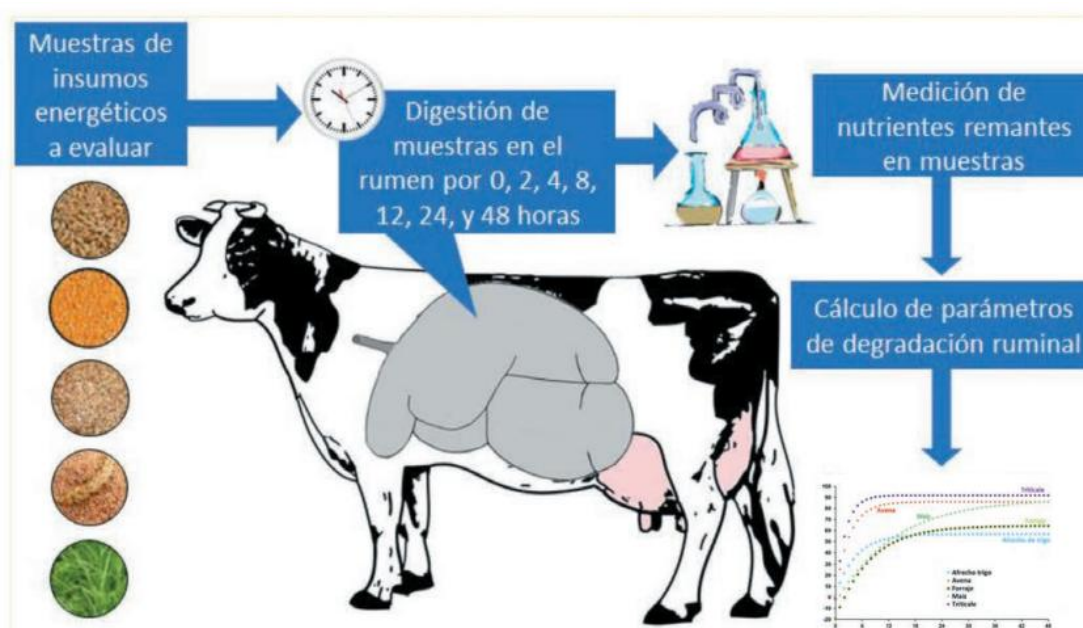


Figura 8. Esquema de metodología de evaluación de degradación de insumos energético en el rumen (digestibilidad *in situ*).

1.2 SISTEMAS DE VALORACIÓN DE ALIMENTOS

(Sainz, C., et. al 1994), manifiesta que varios sistemas han sido desarrollados en diversos países para la valoración de alimentos y estimación de las necesidades nutricionales del animal. Cada sistema tiene sus ventajas y desventajas, y debe ser evaluado de acuerdo con los objetivos de este y las condiciones en las cuales será aplicado. Por su parte (Maroto, F., et al, 2012) indica que la construcción de tablas de alimentos tiene una larga historia. A menudo se consideran las tablas de Thaer 1809 como las primeras. Por su lado (Sainz, C., et. al 1994), menciona que, desde el tiempo de Lavoisier, se ha reconocido que la energía ingerida por el animal no se transforma totalmente a tejidos corporales.

Sin embargo, los fundamentos de los actuales sistemas de alimentación se encuentran en los trabajos, de principio de este siglo, de varios investigadores, incluyendo von Voit, Armsby, Atwater, Kellner y Rubner. (Maroto, F., et al, 2012), concluye que, a partir de este momento, numerosas instituciones de varios países han ido desarrollando y renovando sus propias tablas. No obstante, cabe destacar que el proceso de construcción y actualización de tablas de alimentos se ha limitado casi en exclusiva a los países desarrollados.

Por el contrario, en los países en desarrollo, mayoritariamente situados en áreas cálidas del planeta, no se dispone de este tipo de información, en nuestro país, se utilizan las tablas de los países desarrollados con datos típicos de zonas templadas. (Guada, J., 1996), da a conocer que dentro de los sistemas de valoración se encuentran entre otros. N.R.C., que es un sistema americano, ARC., INRA, AFRC., FEDNA., sistemas europeos CNCPS., sistema australiano, entre otros, así como el sistema brasileño.

1.2.1 SISTEMA N.R.C (NATIONAL RESEARCH COUNCIL)

(N.R.C., 2022), hace referencia que el Consejo Nacional de Investigación fue organizado por la Academia Nacional de Ciencias en 1916 para asociarse a la amplia comunidad de ciencia y tecnología con los propósitos de la Academia; promover el conocimiento y asesorar al gobierno federal. Funcionando de acuerdo con las políticas generales determinadas por la Academia, el Consejo se ha convertido en la principal agencia operativa tanto de la Academia Nacional de Ciencias. (Tisch, D.,1976), Declara que el Consejo Nacional de Investigación

NRC es la principal fuente de información sobre requerimientos de componentes alimentarios utilizada por los nutricionistas que trabajan en América del Norte. (Sainz, C., et. al 1994), dice que el modelo del NRC, está dividido en dos grandes componentes: uno para la predicción de requerimientos y otro para el cálculo del suministro de nutrientes. Dentro de esta estructura, hay sub modelos para las funciones de mantenimiento, crecimiento, lactancia y preñez.



Figura 9. National Research Council.

El primer Subcomité para Nutrición de Ganado Vacuno del Comité NRC, fue convocado en 1943 con el propósito de elaborar normas nutricionales. Este trabajo dio lugar a la primera publicación de estas normas en 1945. En esa publicación, la valoración energética de las raciones venía expresadas en unidades de TDN (Nutrientes Digestibles Totales). A su vez (Pereyra, F. & Nuñez, R., 2010) menciona que este sistema abarca los nutrientes más importantes desde el punto de vista de valoración de alimentos como de las necesidades del animal siendo las más importantes para las especies la energía y proteína.

1.2.2 SISTEMA INRA (INSTITUT NATIONAL DE LA RECHERCHE AGRONOMIQUE)



Figura 10. Institut National de la Recherche Agronomique.

El (INRA, 2011) es el encargado de las investigaciones sobre la agricultura, la alimentación y el medio ambiente. Establecido en todo el territorio, cuenta con 9000 colaboradores. Está organizado en 14 departamentos. Desde 1966, la Ley sobre la Ganadería confió al INRA la misión de administrar las bases de datos Zootécnicas, evaluar a los reproductores y, en general, contribuir a la cogestión del Dispositivo Genético Francés. (INRA, 2018), en 1966, un reglamento nacional sobre ganadería encargó al INRA las siguientes tareas: gestionar el sistema nacional bases de datos ganaderas, informática de evaluaciones genéticas y, participar en la gestión conjunta del sistema genético francés.

(Segui, A., 2020) cita que, el primer libro llamado *Alimentation des ruminants*, se publicó en 1978, para una segunda versión salió en 1988, y que a partir del año 2000 en adelante salen nuevas ediciones del INRA y que a partir del 2018 se cambia la manera de calcular las necesidades energéticas y proteicas, la capacidad de ingestión se incorpora la condición corporal al parto, se calcula la condición corporal a lo largo de la lactación desde el valor al parto; se mantiene el sistema de sustitución entre forrajes y concentrados, pero se cambia la fórmula de la tasa de sustitución global. (Jara, M., 2018), el sistema francés ha publicado sucesivas ediciones y revisiones en los años 1978, 1988 y 2007, y que se ha publicado una nueva edición 2018 de su “libro rojo” y que responde al acrónimo Systali (Système d’Alimentation), y que las bases teóricas se recogen de manera exhaustiva en la primera edición del INRA 1978. (Noblet, J., et al 2004), al respecto, las tablas publicadas por el INRA y el AFZ del 2002, 2004, son aplicables a varias especies: porcino, aves, vacunos, ovinos,

caprinos, conejos, caballos, peces y son el resultado de la colaboración entre el INRA y la AFZ. (Oviedo, G.,2010) complementa y refiere que en este sistema los principios básicos de la alimentación de los rumiantes, es conocer lo mejor posible:

- Las necesidades nutritivas de los animales.
- El valor nutritivo de los alimentos.
- La cantidad de alimento que el animal es capaz de consumir.

Finalmente (Jara, 2017) menciona que el Instituto Nacional Francés de Investigación Agrícola apoya a maximizar el uso de forrajes en la alimentación de rumiantes a través del valor energético del alimento lo cual analiza la ingestión voluntaria de forrajes y las necesidades de mantenimiento del animal como la cantidad de energía necesaria para el mantenimiento del metabolismo basal y para la conservación de masa corporal tanto en calidad como en cantidad.

Los valores nutritivos se han obtenido principalmente de determinaciones *in vivo* realizadas en laboratorios del INRA o de referencias bibliográficas. Los sistemas de valoración utilizados son más o menos complejos dependiendo de la especie animal de que se trate (Noblet, J., et al 2004).

1.2.3 SISTEMA CNCPS (CORNELL NET CARBOHYDRATE AND PROTEIN SYSTEM)

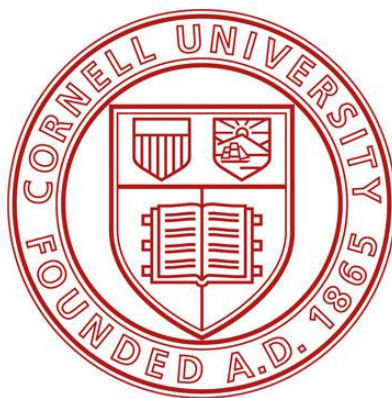


Figura 11. Cornell University.

(Guada, J., 1996), el sistema de valoración proteica y energética desarrollado por la Universidad de Cornell, conocido como "Cornell Net Carbohydrate and Protein System

(CNCPS)" es un nuevo modelo de valoración de alimentos para ganado vacuno, que permite predecir los rendimientos productivos del ganado vacuno a partir del contenido en ingredientes de su dieta. Este sistema está integrado por una serie de sub modelos que valoran, respectivamente, el contenido en carbohidratos y proteína disponibles de la dieta. (Fox et al., 1992) refiere a un programa de evaluación y diseño de dietas para ganado lechero con su primera versión en 1991. (Fox, D.G. et al. 2004), el CNCPS fue primero publicado entre 1992 y 1993 en una serie de cuatro papeles, pero el modelo ha sido mejorado en los últimos 10 años. (Kolver, E., et al., 1998) menciona que el principal objetivo de este sistema es servir como herramienta en el desarrollo de la investigación como para la formulación de piensos.

(Higgs et al., 2015) añade que el sistema contiene información de tasas de digestión (kd) y digestibilidades intestinales. (Tylutki, 2019) complementa que este sistema evalúa principalmente carbohidratos y proteínas también la energía metabólica que son los principales factores que afectan la producción de leche, también se incorpora un algoritmo basado en los resultados de la investigación los cuales presenta métodos de análisis únicos que no se encuentran en otros programas de evaluación y diseño de alimentos como la digestibilidad de carbohidratos, el fraccionamiento de carbohidratos y proteínas, la medición de porciones no digeridas y la medición de nitrógeno ligado a la fibra.

1.2.4 SISTEMA DANÉS DE VALORACIÓN DE ALIMENTOS



Figura 12. Valoración de alimentos Dinamarca.

(Tybirk, P. 2004). En Dinamarca se ha venido utilizando el método de Just desde alrededor de 1975 hasta el año 2002. En 1998 se decidió desarrollar un nuevo sistema de valoración

para reemplazar el sistema de Just. Hubo una larga discusión acerca de los defectos del antiguo sistema y de la relevancia de definir un solo valor energético de los alimentos. El desarrollo del sistema se produjo a través de la colaboración entre el *Instituto Danés de Ciencias Agrícolas* (Sigurd Boisen) y el *Comité Nacional para la Producción Porcina* (Per Tybirk et al.).

El objetivo fue conseguir el mejor compromiso posible entre un sistema teóricamente correcto desde un punto de vista científico y al mismo tiempo lo más sencillo posible para su uso práctico. El uso práctico del sistema se inició de forma generalizada en el verano de 2002. En el año 2003 el Comité Nacional para la Producción Porcina realizó un gran esfuerzo en el muestreo y análisis de alimentos. Desde abril del año 2004 el nuevo sistema pasó a ser el método oficial danés de control de los alimentos. (Tybirk, P., 2011) este nuevo sistema fue implementado en 2005 en la programación lineal danesa para optimizar la composición de los piensos a los menores costos.

1.2.5 SISTEMA A.R.C. (AGRICULTURAL RESEARCH COUNCIL)



Figura 13. Agricultural Research Council.

(A.R.C., 2013). El Consejo de Investigación Agrícola (ARC) es un organismo paraestatal estatutario establecido en virtud de la Ley de Investigación Agrícola de 1990 (Ley 86 de 1990). Es la principal institución de investigación agrícola de Sudáfrica. El ARC se estableció en 1992 y tiene una rica historia.

El ARC de gran Bretaña, es el primer organismo científico en elaborar una propuesta dentro de los sistemas clásicos de valoración energética, basándose en los trabajos de Blaxter (1962) (Jara, M., 2018).

1.2.6 SISTEMA C.V.B. (CENTRAL BUREAU FOR LIVESTOCK FEEDING)

CVB Table Booklet Feeding of Ruminants
2022

Nutrient requirements for cattle, sheep and goats and
nutritional values of feeding ingredients for ruminants

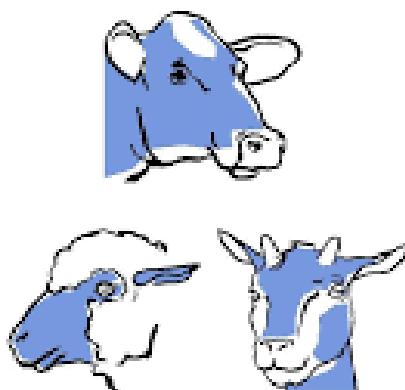


Figura 14. Central Bureau for Livestock Feeding.

(Doorenbos, J. et al. 2004), es el sistema de valoración de alimentos que se realiza en los Países Bajos y que es publicado por el Central Bureau for Livestock Feeding (CVB). Es parte del Dutch Product Board Animal Feed, que es la organización reguladora para empresas y trabajadores en el sector de piensos compuestos. (Taminga, S., et al 2009), la misión del CVB ha sido definida como: “Promover la alimentación racional del ganado”. Intenta conseguirlo a través de un método de trabajo independiente y objetivo que conduzca a un sistema de análisis, obtención de datos clave y métodos de cálculo. En 1990, CVB introdujo un nuevo sistema preliminar de proteínas para rumiantes, el sistema DVE (Proteína Digestible en el Intestino, por sus siglas en holandés *Verteerbare Eiwit in de Darm*) y se puso en funcionamiento en los Países Bajos en 1991. Finalmente, el nuevo sistema de evaluación de proteínas se completó y presentó en una reunión celebrada en marzo de 2007, como sistema DVE/OEB2007.

1.2.7 SISTEMA BRASILEÑO

	Aminoácidos y Digestibilidad					
	Total	% PB	Aves		Cerdos	
			DIE ¹	Coef.	DIE ¹	Coef.
Proteína Bruta, %	10,3	100	8,97	87,1	7,62	74,0
Lisina, %	0,47	4,56	0,40	85,6	0,29	62,3
Metionina, %	0,20	1,94	0,18	90,0	0,16	77,6
Met + Cis, %	0,42	4,08	0,35	83,6	0,30	71,2
Treonina, %	0,39	3,79	0,30	77,2	0,27	70,5
Triptófano, %	0,11	1,07	0,09	83,1	0,08	68,5
Arginina, %	0,70	6,80	0,67	96,2	0,59	84,6
Gli + Ser, %	0,98	9,51	0,77	78,3	-	-
Valina, %	0,51	4,95	0,43	85,0	0,37	72,5
Isoleucina, %	0,33	3,20	0,28	86,2	0,25	74,5
Leucina, %	0,89	8,64	0,82	91,7	0,69	77,0
Histidina, %	0,31	3,01	0,28	90,8	0,24	78,0
Fenilalanina, %	0,44	4,27	0,39	89,2	0,32	73,5
Fen + Tir, %	0,70	6,80	0,64	90,9	0,51	73,2
Alanina, %	0,67	6,50	0,56	83,1	0,45	66,6
Cisteína, %	0,22	2,14	0,17	77,8	0,14	65,3
Tirosina, %	0,26	2,52	0,24	93,9	0,19	72,6
Glicina, %	0,51	4,95	0,40	78,3	0,35	68,0
Serina, %	0,47	4,56	0,37	78,3	0,32	68,3
Prolina, %	0,73	7,09	0,64	87,2	0,54	74,6
Glutamina ² , %	0,92	8,93	0,79	86,4	0,65	70,6
Ácido Glutámico ² , %	0,59	5,73	0,51	86,4	0,42	70,6
Asparagina ² , %	0,35	3,40	0,28	80,6	0,22	61,6
Ácido Aspártico ² , %	0,43	4,17	0,35	80,6	0,26	61,6
Nitrógeno Total (PB/6,25), %	1,65	16,0	1,44	87,1	1,22	74,0
Nitrógeno Esencial Aves, %	0,87	52,8*	0,75	86,0	-	-
Nitrógeno Esencial Cerdos, %	0,71	43,0*	-	-	0,52	73,9

¹DIE = Digestibilidad IlealEstandarizada.

²Valores estimados usando datos de Li et al., (2011).

*Nitrógeno esencial aves y cerdos calculado como porcentaje del nitrógeno total.

Figura 15. Tablas Brasileñas.

(Rostagno, H. 2017), da a conocer que en Brasil la formulación de raciones era basada en informaciones de composición de alimento y de requerimientos nutricionales establecidas en el exterior, principalmente en los Estados Unidos y Europa. Las tablas usadas para cálculos de raciones, tanto en las industrias, así como en las instituciones de investigación, eran tablas extranjeras o publicadas en el país con base en datos de tablas provenientes del exterior. El Departamento de Zootecnia de la Universidad Federal de Viçosa ha desarrollado trabajos de experimentación e investigación, destinados a construir, con datos obtenidos en el país, una tabla de composición de alimentos y requerimientos nutricionales, que tuvo como resultado la publicación de la primera “Tabla brasileña de composición de alimentos y de requerimientos nutricionales”, en 1983, más tarde fueron publicadas la 1a edición de las Tablas Brasileñas en 2000, la 2a Edición en 2005 y la 3a Edición en 2011. Para la elaboración de las tablas brasileñas de composición de alimentos, fueron realizados miles de análisis de alimentos, producidos en el Brasil. Específicamente, en la determinación de los valores de

energía, fueron realizados decenas de ensayos con animales en laboratorios de nutrición animal y un gran número de análisis químicos.

1.2.8 SISTEMA FEDNA



Figura 16. FEDNA.

Para (Jara, M. 2018), nos menciona que es el sistema es española y significa la Fundación Española para el Desarrollo de la Nutrición Animal (FEDNA), y es la organización encargada de recopilar la información sobre la alimentación animal. La información es pública y disponible en su página web <http://www.fundacionfedna.org/>. Los cálculos necesarios para evaluar las necesidades nutricionales han evolucionado, cada vez hay más variables a tener en cuenta, y cuya persecución en los valores numéricos finales implican formulas polinómicas, cálculos exponenciales y operaciones concatenadas.

1.2.9 MÉTODOS DE ANÁLISIS OFICIALES

Acontinuación se citan algunos organismos que desarrollan y publican métodos de análisis oficiales, que se pone a consideración:

- Association Of Official Analytical Chemists (A.O.A.C.)
- National Institute Of Standards and Technology (N.I.S.T.)
- United State Environmental Protection Agency (U.S.E.P.A.)
- International Union Of Pure and Applied Chemistry (I.U.P.A.C.)
- American Association of Cereal Chemists (A.A.C.C.)
- American Oil Chemist's Society (A.O.C.S.)
- Analytical Methods Committee, Royal Society Of Chemistry (A.M.C.-R.S.C.)
- International Organization Of Standarization (I.S.O.)
- American Society for Testing and Materials (A.S.T.M.)
- International Association for Cereal Science and Technology (I.C.C.)
- Ministry Of Agriculture, Fisheries and Food (M.A.F.F.)

- Métodos Oficiales Análisis UE. Rgto CE 152/2009
- Normas ANFOR

1.3 LOS ALIMENTOS Y SU COMPOSICIÓN

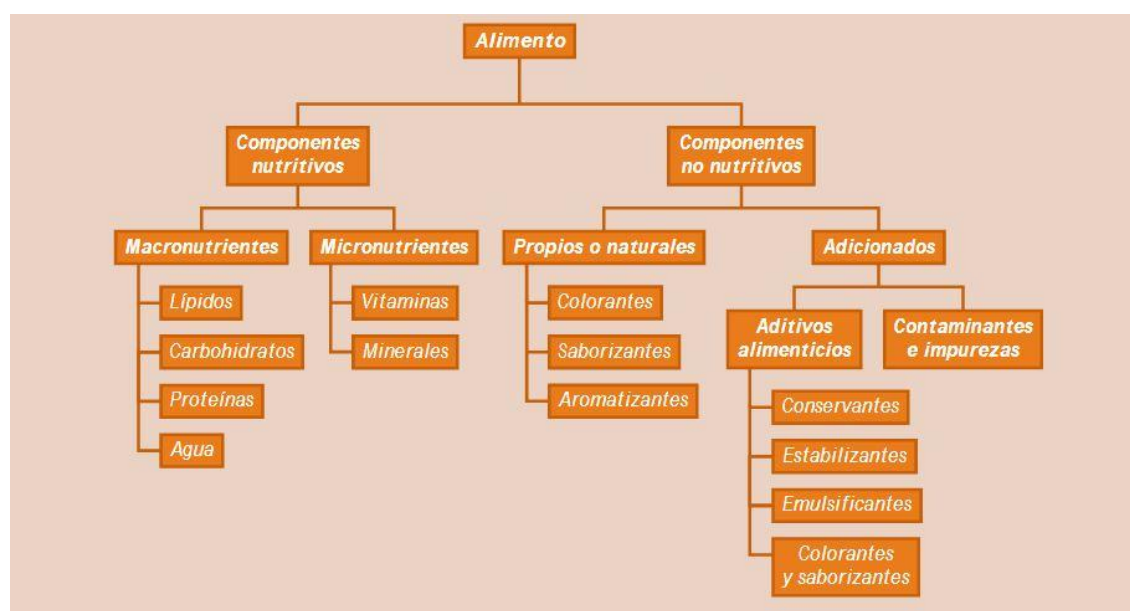


Figura 17. Clasificación general de los alimentos.

Un alimento puede ser definido como cualquier componente de la ración que provee nutrientes. La mayoría de los alimentos proporcionan uno o varios nutrientes y pueden incluirse también ingredientes para proporcionar volumen, reducir la oxidación de nutrientes que se oxidan con facilidad, proporcionar sabor u otros factores relacionados con la aceptabilidad sin servir estrictamente como fuente de nutrientes **(Parsi, J. et al. 2001)**.

Los alimentos son mezclas homogéneas de varios ingredientes nutricionales, formulados en cantidades adecuadas, procesados mediante la digestión y asimilados, aportando los nutrientes necesarios para el organismo, asegurando el crecimiento, la reproducción y las funciones fisiológicas y bioquímicas inherentes a su propia vida. **(Maruelli, J., 2017)**, y para la producción de sustancias animales (leche, huevos, lana, etc.). Los alimentos más explotados por el hombre son, principalmente, vegetales o productos de origen vegetal. Los principales tipos de alimentos para animales son los forrajes y concentrados.

Los forrajes se emplean principalmente para los rumiantes, estos alimentos son voluminosos, tienen poco peso por unidad de volumen y un alto contenido de paredes celulares. Los concentrados son casi exclusivamente, alimentos destinados a los animales monogástricos; se incluyen en las raciones de los rumiantes para suplementar los forrajes, en distintas cantidades (Bondi, A. 1988). Para (Maiztegui, J. 2009), refiere que cualquier producto de origen vegetal o animal puede ser clasificado como un alimento, siendo los animales capaces de utilizar sus componentes orgánicos e inorgánicos (sin riesgo para su salud).

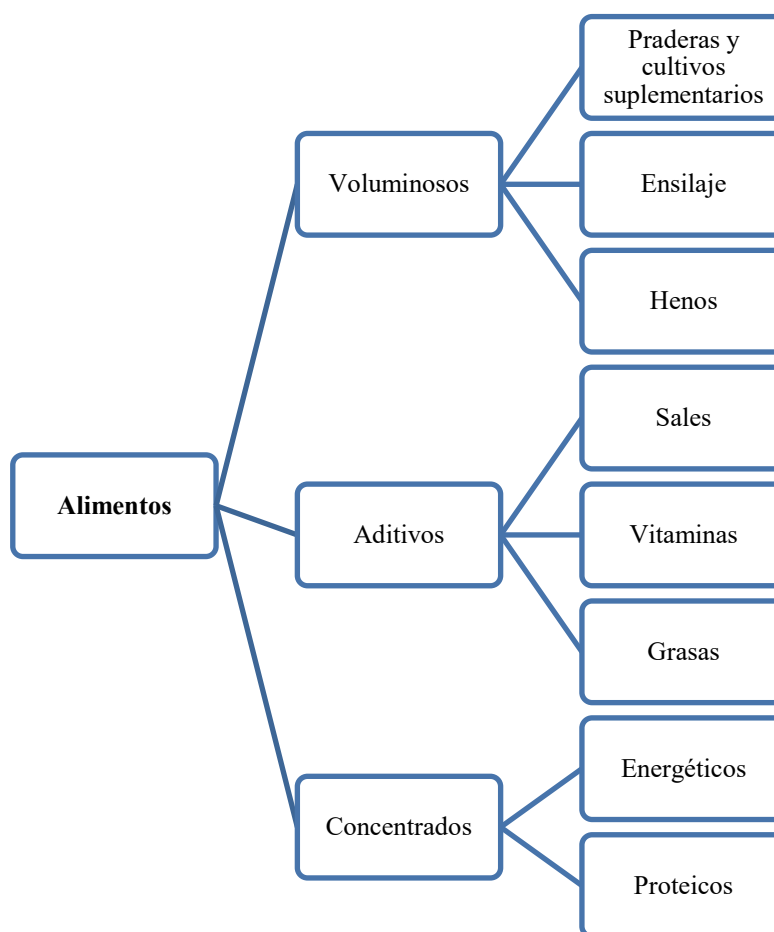


Figura 18. Clasificación de los alimentos para consumo animal.

Dependiendo de las clases y especie de animales explotados, se dispone de más de 2000 productos diferentes para destinarlos a los animales, sin contar distintas variedades de forrajes y cereales (Cabrera, A., 2014), (Salcedo, J. 2016). Generalmente, los alimentos utilizados por los animales son clasificados en alimentos voluminosos (verdes y secos) y concentrados (proteicos y energéticos).

Para (Gaggiotti, m., 2008) y (Maiztegui, j. 2009), los alimentos pueden ser clasificados en dos grandes grupos: forrajes y concentrados. El criterio para la caracterización de ambos grupos es el contenido de fibra bruta (FB); en general los forrajes contienen más del 18 % de FB y los concentrados menos del 18 %. Sin embargo, esta clasificación es imperfecta y arbitraria. La FB no incluye totalmente a la lignina y a la hemicelulosa. Esta clasificación es utilizada desde hace muchos años cuando el sistema de detergentes de Van Soest aún no se utilizaba.

Existen otras descripciones de la clasificación de alimentos para animales, desde los más sencillos hasta los más complejos. Por ejemplo (Nouel, G., 2003), manifiesta que los Alimentos se pueden clasificar en:

- Granos de cereales y sus subproductos.
- Las leguminosas, oleaginosas y sus subproductos.
- Los pastos frescos y conservados, pueden estar constituidos por henificados (Secos) y ensilados (Húmedos).



Figura 19. Heno de alfalfa.

(Murillo, B. 1994), (Cabrera, A., 2014), dan a conocer que NRC creó un programa de clasificación y nomenclatura de los alimentos.

Los alimentos están agrupados en ocho clases:

- 1) Forrajes secos y alimentos toscos
- 2) Pasturas cultivadas, pastos nativos y forrajes utilizados verdes
- 3) Ensilajes
- 4) Alimentos energéticos
- 5) Alimentos proteicos
- 6) Suplementos minerales
- 7) Suplementos vitamínicos

8) Aditivos



Figura 20. Aditivos.

Tabla 1. Clasificación de los alimentos para consumo animal.

Forrajes	Frescos	Pasturas	Gramíneas	C-3
		Perennes	Leguminosas	C-4
		Anuales	Gramíneas	Templadas
	Conservados	Henos	Leguminosas	Tropicales
		Silajes		
		Henolajes		
Rastrojos				
Diferidos				
Concentrados	Granos	Cereales		
		Oleaginosas		
	Grasas y aceites			
Nitrógeno no proteico				
Subproductos de la agroindustria	Origen Vegetal	Industria aceitera		
		Industria molinera		
		Industria fruti hortícola		
		Industria azucarera		
		Industria cervecera		
		Industria vitivinícola		
		Industria de la golosina y panadería		
		Industria maderera y papelera		
	Origen Animal	Industrias lácteas		
		Industria frigorífica		
		Industria pesquera		
Industria avícola				
Suplementos minerales				
Suplementos vitamínicos				
Aditivos				
	Antibióticos			
	Saborizantes			
	Antioxidantes y conservantes			

Fuente: Parsi, J. *et al.* 2001.

Por su lado (Wattiaux, M. 2007), menciona que los alimentos para vacas lecheras pueden incluir tallos, hojas, semillas y racimos de varias plantas, también pueden ser alimentadas con subproductos industriales (harinas de semillas oleaginosas, melaza, granos cerveceros, subproductos de molino etc.) pero necesitan minerales y vitaminas para responder a sus requisitos nutricionales, frecuentemente se los puede clasificar así:

- Forrajes
- Concentrados
- Suplemento de proteína
- Minerales y vitaminas

Mientras que (Maruelli, J., 2017), clasifican a los alimentos en:

- **Alimentos de volumen o groseros:** Ocupan mucho volumen y tienen relativamente poco valor nutritivo. Entre ellos se distinguen:
 - Alimentos Fibrosos
 - Forrajes verdes
 - Ensilados
 - Henos
 - Subproductos Fibrosos
- **Alimentos concentrados:**
 - **Alimentos energéticos:** La cantidad de energía es mayor que la de proteína.
 - **Alimentos proteicos:** La fracción de proteína predomina sobre la fracción energética.
 - **Alimentos equilibrados:** Compuestos destinados a la producción, diseñados para cubrir los requerimientos del animal.
 - **Alimentos minerales y correctores:** No contienen energía, pero aportan los nutrientes necesarios para equilibrar los minerales en las distintas dietas del ganado.

(Stuart, J., et al., 2003), exponen que es conveniente clasificar los alimentos según sus propiedades comunes. Esto facilita en primer lugar, el estudio de sus compuestos nutritivos principales y, por otra parte, facilita la sustitución de un alimento por otro de su mismo grupo. Un criterio que resulta de común denominador entre todas consistiría en dividirlos en fuentes

energéticas, fuentes proteicas, alimentos fibrosos, fuentes minerales y finalmente, otros compuestos.

1.3.1 FUENTES ENERGÉTICAS

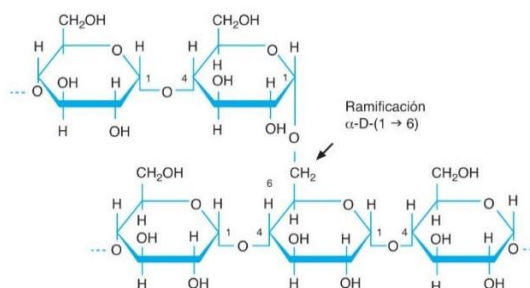


Figura 21. Almidón.

Son aquellos alimentos que contienen menos de 18 % de fibra bruta y también menos del 20 % de proteína. Comprende los granos de cereales y los subproductos de la molinería, las raíces y tubérculos, como la yuca y otros.

1.3.2 FUENTES PROTEICAS

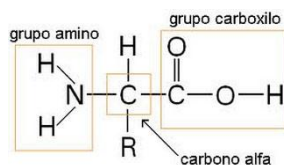


Figura 22. Estructura química de los aminoácidos.

Son los alimentos que contienen más del 20 % de proteína bruta y menos del 18 % de fibra bruta. Comprenden fuentes de origen animal, vegetal y microbiano. Entre las primeras se incluyen las harinas de carne, sangre y pescado, algunos subproductos de la industria láctea y otros.

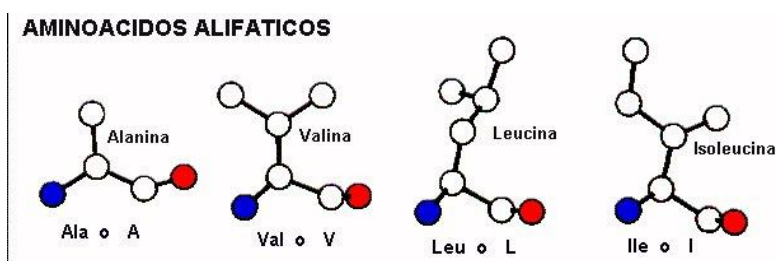


Figura 23. Algunas estructuras de aminoácidos alifáticos.

1.3.3 ALIMENTOS FIBROSOS

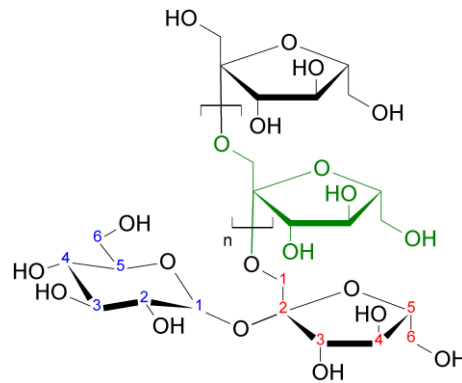


Figura 24. Fracción de la estructura de la fibra alimentaria.

Contienen más del 18 % de fibra bruta, o aproximadamente, más del 40% de paredes celulares, y menos del 20 % de proteína. Incluyen los pastos, forrajes, algunos árboles y arbustos, los henos, ensilados y algunos subproductos fibrosos agrícolas o agroindustriales. Ciertas leguminosas forrajeras al menos durante su etapa inicial de crecimiento pueden contener menos de 18 % de fibra bruta con más de 20 % de proteína, pero de todas formas se suelen incluir dentro de los alimentos fibrosos.

1.3.4 MINERALES

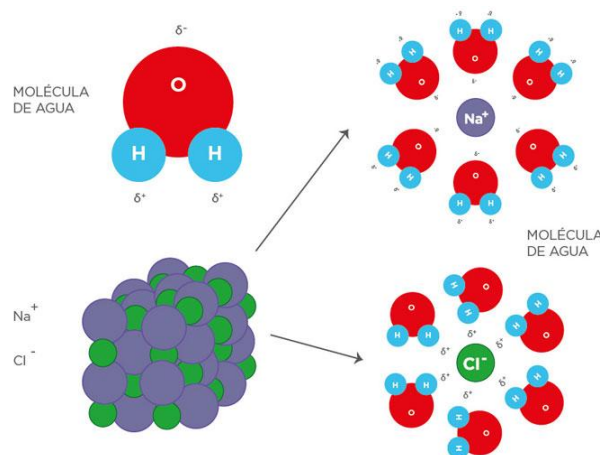


Figura 25. Interacción del agua con las sales minerales.

Entre las fuentes minerales se encuentra los fosfatos de calcio, la harina de huesos, la sal común, los sulfatos de calcio, sodio o amonio, así como otros portadores de macro y microelementos.

1.3.5 OTROS PRODUCTOS

Existen algunos productos o compuestos que suelen introducirse en la ración del bovino y que no es posible o no es conveniente incluir en los anteriores grupos de alimentos. Entre éstos se encuentran la urea, modificadores del patrón fermentativo ruminal como el monensin.

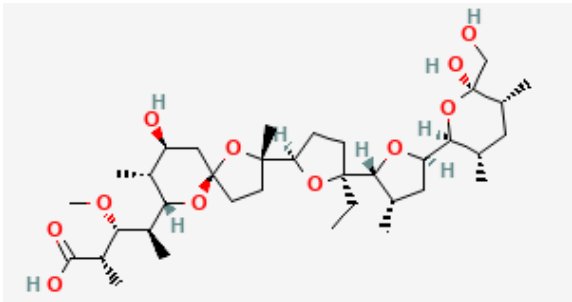


Figura 26. Monensin.

1.4 COMPOSICIÓN DE LOS ALIMENTOS PARA CONSUMO ANIMAL.

Lo lógico que el estudio de la nutrición animal y/o valoración de los alimentos deba comenzar por el estudio de la composición de los alimentos (Salcedo, J. 2016). La mayor parte de la información existente sobre la composición de los alimentos se ha obtenido siguiendo un sistema analítico llamado análisis inmediato de los alimentos, establecido hace más de 100 años por dos científicos alemanes, Henneberg y Stohmann. En este sistema de análisis, los alimentos se dividen en seis fracciones: humedad, cenizas, proteína bruta, extracto etéreo, fibra bruta y extractivos libres de nitrógeno, según McDonald, P., *et al*, 1995.

Tabla 2. Principales componentes de los alimentos de origen vegetal y animal.

Alimento	Agua	
	Materia Orgánica	Carbohidratos
		Lípidos
		Proteínas
	Materia seca	Ácidos nucleicos
		Ácidos orgánicos
		Vitaminas
	Materia Inorgánica	Macrominerales
		Microminerales

Fuente: Salcedo, J. 2016, McDonald, P. *et. al.* 1995, y Bondi, A. 1988.

Para Santini, F., 2014, los alimentos están compuestos por agua más otros ingredientes que constituyen la materia seca. La materia seca está conformada por componentes orgánicos

(materia orgánica) e inorgánicos (minerales). Dentro de la materia orgánica se encuentran los compuestos nitrogenados, los lípidos, los carbohidratos, las vitaminas, otros componentes que incluyen lignina, toxinas, hormonas, sustancias que contribuyen al sabor, el olor, el color. La materia inorgánica comprende elementos esenciales (macro y microelementos), y elementos no esenciales. Para Maiztegui, J. 2009 manifiesta que todos los tejidos de las plantas y animales están compuestos de los siguientes elementos:

- 1) Agua
- 2) Materia orgánica
- 3) Minerales o ceniza

Cuando un alimento ha sido secado para quitar toda el agua, el material que se obtiene, se llama materia seca. La materia seca se puede subdividir en materia orgánica y minerales. La materia orgánica está compuesta de carbono, hidrógeno, oxígeno y nitrógeno. Finalmente, Wattiaux, M. 2007 nos hace conocer que, aunque arbitraria, esta clasificación se base en el valor del alimento como suministro de nutrientes específicos. Nutrientes son las sustancias químicas necesarias para la salud, mantenimiento, crecimiento y producción del animal. Los nutrientes encontrados en los alimentos y requeridos por los animales pueden ser clasificados así:

- Agua
- Energía (lípidos, carbohidratos, proteínas)
- Proteína (compuestos nitrogenados)
- Vitaminas
- Minerales

Los forrajes también pueden contener sustancias que no tienen valor nutritivo. Algunos componentes tienen estructuras complejas (compuestos fenólicos) que son indigestibles y pueden interferir con la digestión de algunas nutrientes (por ejemplo, lignina y tanino). Además, algunas plantas contienen toxinas que son dañinas para la salud del animal.

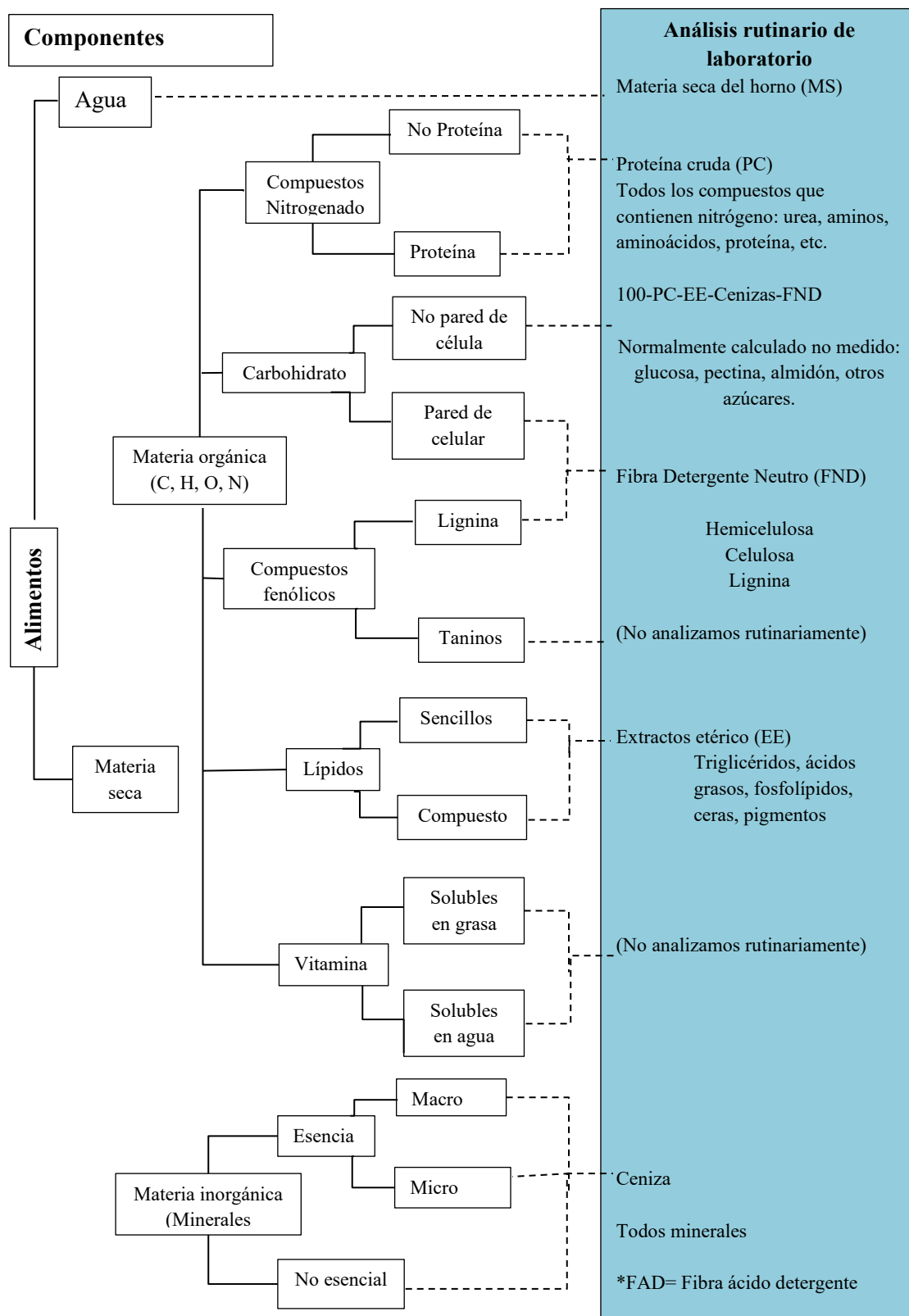
1.5 MÉTODOS DE EVALUACIÓN.

La evaluación de alimentos se refiere al uso de métodos para describir los alimentos para animales con respecto a su capacidad para mantener diferentes tipos y niveles de desempeño animal. El objetivo práctico de la evaluación de alimentos es entre otros, optimizar la

eficiencia de la utilización de alimentos, (Theodorou, M. & France, J. 2007). Existen diversos métodos analíticos para determinar la composición de los alimentos. Es importante tener un conocimiento de estos ya que según cuál sea el utilizado, puede tener implicancias en los resultados obtenidos (Santini, F., 2014). Existe una serie de análisis que permiten determinar la composición química, el valor nutricional y el potencial grado de deterioro de los alimentos (Gallardo, M. 2006). Los métodos para expresar el valor alimenticio tienden a simular o medir el efecto de la digestión sobre ese alimento, la mayoría de los métodos de evaluación del alimento tienden a reproducir lo que sucede en el tracto gastrointestinal cuando el animal ingiere el alimento. Que existen principalmente tres tipos de métodos para la evaluación del valor alimentario, que son los químicos, los enzimáticos y los biológicos. Todos ellos tienden a simular lo que ocurre en el animal durante el proceso digestivo (Ribeiro, J.M. & Moreira, O.M., 2000).

Tradicionalmente se afirma que el valor nutritivo de un alimento depende, fundamentalmente, de factores tales como su consumo, composición química y digestibilidad (Baumont et al, 2000), al respecto Chumpawadee, S., et, al. 2007, revelan que además de estos se debe considerar la medición de la degradabilidad. (Serna, L., & López, S. 2010), indican que los tres tipos de análisis son: análisis físico-químico, análisis microbiológico y análisis sensorial, y que el valor nutricional de un alimento depende obviamente de su composición química y está asociado no solo a la cantidad de nutrimentos que posea sino también y sobre todo a la calidad de estos nutrimentos.

Figura 27. Composición de alimentos, demostrando los nutrientes y los métodos de análisis.



Fuente: (Modificado autores, Wattiaux, M. 2007)

Por su lado (Cozzolino, D. 2002), menciona que la evaluación de alimentos integra un conjunto de parámetros o componentes que se consideran importantes en la definición de la calidad, siendo los más importantes el contenido energético (evaluado a través de la digestibilidad y contenido de fibra) y el contenido de proteína, y que en la actualidad los laboratorios de análisis poseen diversos métodos de estimación del valor nutritivo: métodos físicos, químicos y biológicos. Además (De Dios, G. 2012); (Pirela M. 2005), establecen que los métodos de evaluación de los alimentos están constituidos por factores como son la composición química, digestibilidad, factores ambientales, factores propios del animal y la interacción entre alimentos, el animal y el ambiente. A su vez (Gallardo, M. 2006), cita que, en términos generales, el diagnóstico de la calidad y del valor nutritivo de los forrajes conservados se realiza combinando tres tipos de análisis:

- a) Análisis químicos
- b) Análisis biológicos
- c) Análisis organolépticos

Estos son los análisis más representativos que actualmente recomiendan los nutricionistas para obtener información básica que permita realizar un manejo adecuado y formular dietas equilibradas. (Cáceres, O., & González, E. 2015), señalan que el valor de un alimento depende de su valor nutritivo y de su aceptabilidad, por lo que se hace necesario, además de medir su composición bromatológica y digestibilidad, conocer la cantidad ingerida por los animales, para lo cual se debe utilizar el método in vivo que es más preciso y próximo a la realidad.



Figura 28. Composición del alimento.

De acuerdo a (Colombatto, D. 2003), da a conocer que en la actualidad el análisis de alimentos se lleva a cabo usando técnicas menos invasivas, que las utilizadas hasta hoy e intentan predecir alguno de los tres parámetros que constituyen la performance animal: el consumo, la digestibilidad y la eficiencia de utilización de estos. Por su lado (Theodorou, M. & France, J. 2007), dice que se pone énfasis en la determinación de entidades químicas específicas, aunque las características físicas del alimento también son importantes. Olanite, J.A., & Arigbede, O.M. 2011, explica que el valor nutritivo, la digestibilidad y el consumo de alimento son los principales factores que determinan el rendimiento animal. Estos tres factores, a su vez, están influenciados por una serie de otros factores relacionados tanto con el animal (por ejemplo, especie, estado fisiológico, edad, experiencia de pastoreo, manejo, etc.) como con el forraje (especie, etapa de crecimiento/madurez, manejo, temporada, ubicación, etc.).

La composición química y la digestibilidad a menudo están vinculadas al término valor nutritivo, que describe la cantidad y los tipos de nutrientes que el animal puede obtener del alimento. Finalmente (Geert, J.et. al. 2000) declara que el valor nutritivo de los alimentos para monogástricos está determinado por seis parámetros:

- 1) Composición química
- 2) Valor de la energía determinada a partir de las pruebas de digestibilidad (Energía digestible para cuyes conejos y caballos), (Energía Metabolizable para aves y cerdos)
- 3) Valor de la proteína conocida como Proteína ideal
- 4) Contenido mineral
- 5) Consumo voluntario
- 6) Factores anti nutricionales y sustancias tóxicas

En cambio, para rumiantes (Boever, J., et al 1995) manifiesta que el valor nutritivo de los alimentos está determinado por siete parámetros:

- 1) Composición química
- 2) Valor de la energía determinada a partir de las pruebas de digestibilidad (Energía digestible para cuyes conejos y caballos), (Energía Metabolizable para aves y cerdos)
- 3) Valor de la proteína conocida como Proteína ideal
- 4) Contenido mineral

- 5) Consumo voluntario
- 6) Factores anti nutricionales y sustancias tóxicas
- 7) La estructura física de los alimentos

Las materias primas y los productos terminados que sean destinados a la alimentación animal pueden valorarse de formas diferentes, es así que tenemos: métodos químicos, pruebas físicas, biológicas, microbiológicas y organolépticas, las mismas que se describen a continuación.

1.5.1 MÉTODOS QUÍMICOS

Los métodos químicos (**Cozzolino, D. 2002**) analizan los nutrientes más comunes a través de los procesos y las reacciones químicas, exponiendo a los alimentos a intensas reacciones con ácidos o bases concentradas, extracción con disolventes u otro tipo de tratamientos. Los métodos de laboratorio se basan en reacciones químicas que permiten estimar el contenido de los componentes químicos del alimento (**Juan, N., et. al., 1995**). Para (**Bravo, J. 2006**), estos métodos analizan cuantitativamente a los distintos componentes de un alimento, pero no lo relacionan con su utilización por parte del animal. En la práctica un análisis simplificado, el bromatológico o análisis de Weende ha dado buenos resultados y se ha convertido en la base para la evaluación del valor nutritivo de alimentos para animales (**Dieter Hess, H. 1998**). Según (**Colombatto, D. 2003**), los análisis químicos pueden darnos información sobre los componentes químicos del alimento que influyen la digestión de este. Esto nos permitirá entender mejor los procesos bioquímicos que impactan sobre la performance animal. Los análisis químicos no proveen un estimador directo de valor nutritivo, pero mediante asociaciones estadísticas se pueden obtener estimadores de consumo y digestibilidad. Por su lado (**Greenfield, H & Southgate, D., 2006**), comenta que, el conocimiento de la composición química de los alimentos es el primer elemento esencial en cualquier estudio cuantitativo de la nutrición y valoración animal y que los datos de la composición química de los alimentos se obtienen principalmente por medio del Análisis Proximal y el método de Van Soest. (**De Gracia, M. & Gallardo, A., 2011**) declara que los análisis de los alimentos permitirán formular una ración que se adecue a satisfacer los requerimientos nutricionales de los animales.

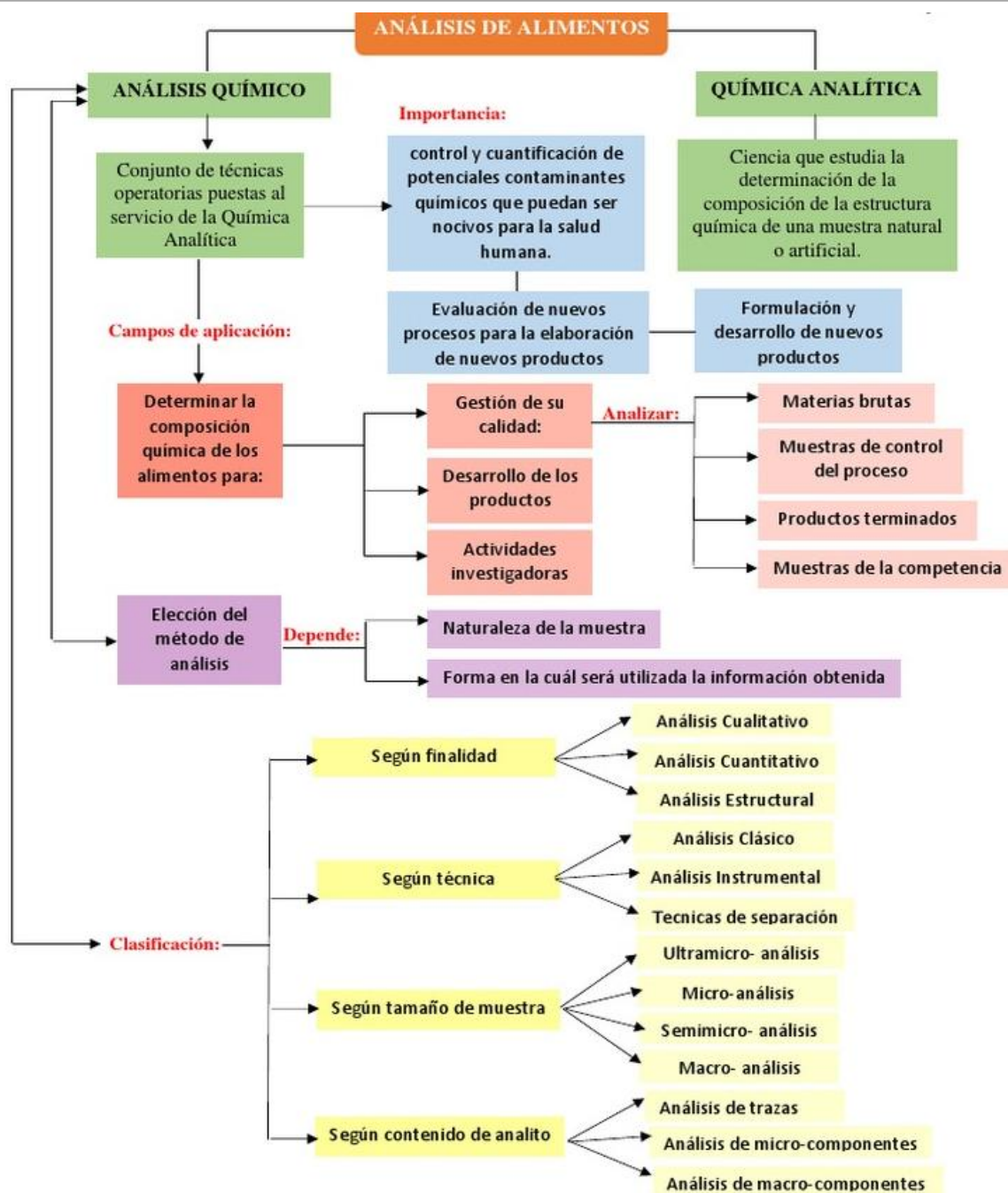


Figura 29. Métodos para el análisis de alimentos.

El contenido de nutrientes (materia seca, proteína bruta, fibra bruta, materia orgánica y cenizas) es determinado por los métodos tradicionales, conocidos en su conjunto como análisis bromatológicos (incluye el análisis proximal y complementario) (Cáceres, O., & González, E. 2015). Además de lo citado Juárez A. *et. Al.* 2009, señala que la información actual también se basa en el contenido de grasa (considerando el perfil de ácidos grasos y aquellos que no contienen ácidos grasos como parte de su estructura), la digestibilidad de sus

hemicelulosa, pudiendo considerarse como una medida del material de la pared de la célula vegetal.

- La *fibra acida-detergente* (FAD) es el residuo resultante del tratamiento con ácido sulfúrico 0.5 M y bromuro de cetiltrimetilamonio, y está formado, esencialmente, por las fracciones brutas de lignina y celulosa del material vegetal, aunque también incluye sílice (McDonald, P. *et al.* 1995); (Bravo, J. 2006).

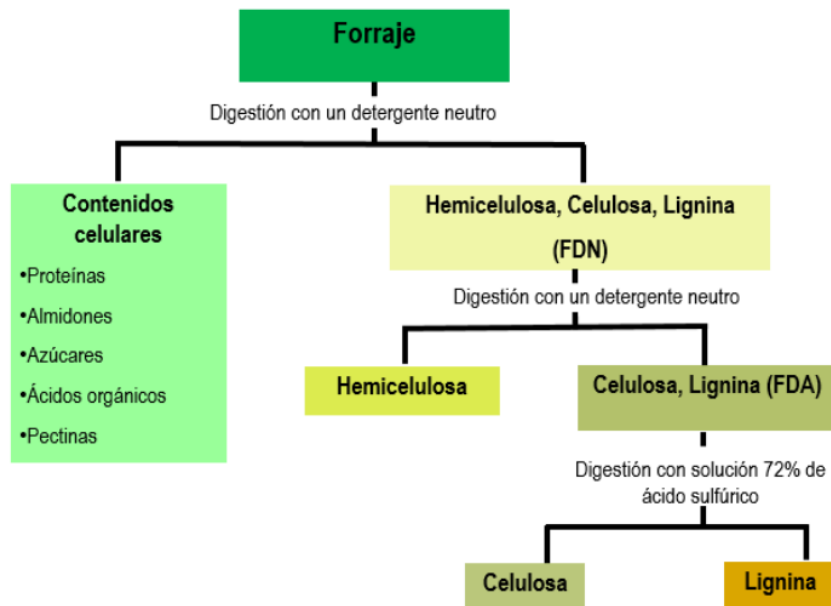


Figura 31. Sistema de Van Soest.

1.5.2 PRUEBAS FISICAS

Hasta finales de la década de los 60, los estudios donde más énfasis se consideró es la energía y la proteína, en cambio la fibra fue un componente completamente olvidado, es a partir de los años 70 se ha desarrollado, pero a pasos lentos en todo lo referente a este componente como la conocemos en la actualidad. A raíz de estos estudios, se estableció, por ejemplo, la relación entre ingesta de fibra dietética y su implicación en la función y patología intestinal (García P. & Velasco, G., 2007).

Para poder entender las pruebas físicas de los alimentos en primer lugar tenemos que realizar una diferenciación entre animales monogástricos y rumiantes. Este material tiene el propósito de dar a conocer de forma clara, sencilla y concisa las principales consideraciones que distinguen en su primera parte a los alimentos fibrosos y su potencialidad para el uso en las

especies monogástricas (fibra dietética), considerándose para la segunda parte lo correspondiente a la fibra para rumiantes conocida también como la estructura física de los alimentos groseros para rumiantes.

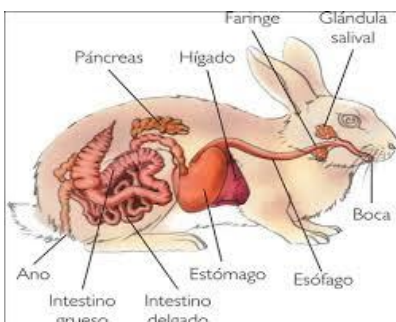


Figura 32. Sistema digestivo en monogástricos.

En lo referente a especies monogástricas, (Rodríguez, P. et al. 2000); (García, P., & Velasco, C. 2007), dan a conocer que el término “fibra dietética” incluye todos los polisacáridos ingeridos en la dieta y que no pueden ser digeridos por las enzimas secretadas por el ser humano. Se ha encontrado una correlación negativa entre la ingestión de fibra dietética y la incidencia de enfermedades denominadas “occidentales” diverticular, cáncer de colon y recto, apendicitis, varices y hemorroides, enfermedades coronarias, cálculos renales y diabetes, las alteraciones en el ritmo y el tránsito intestinal.

Se han realizado varios trabajos que han ido aportando pruebas confirmatorias de que la fibra contribuye a mantener la salud y a prevenir y/o mejorar ciertas enfermedades. Por otro lado (Schneeman, B & Gallahert, D, 1985), citan que en humanos y en varias especies animales, el consumo de dietas altas en fibra ha sido asociado con una notable reducción en la digestibilidad y disponibilidad de proteínas, grasas y otros nutrientes como minerales, vitaminas y carbohidrato debido principalmente a la capacidad de la fibra para alterar el ritmo de digestión y absorción en el tubo digestivo.

Ahora bien, la caracterización de la fibra dietética no solo comprende su composición química son también las propiedades físico- químicas. Varios investigadores han planteado que la fibra dietética se clasifica por el grado de solubilidad en agua a través de sus componentes solubles e insolubles (La Fibra Soluble y la Fibra Insoluble), que pueden ejercer varios efectos fisiológicos a lo largo de las funciones del del tracto gastrointestinal al administrar los alimentos fibrosos a los animales monogástricos (Savón, L., & Gutiérrez, O.,

1999). Savón, L., et al. 2002, la fibra soluble (FS) forma una dispersión en agua; la cual conlleva a la formación de geles viscosos en el tracto gastrointestinal, que tienen la propiedad de retardar la evacuación gástrica, haciendo más eficiente la digestión y absorción de alimentos y generando mayor saciedad.

Tabla 3. Clasificación de la fibra dietética.

HIDRATOS DE CARBONO				Sustancias asociadas
Análogo de carbohidratos	Oligosacáridos resistentes	Polisacáridos no amiláceos Solubles	Insolubles	
Dextrinas resistentes:	Rafinosa	Hemicelulosa		Lignina
Maltodextrinas resistentes (FS)	Estaquiosa	B-glucano		Fitatos
De síntesis:	Verbascosa	Pectinas		Cutinas y suberinas
Polidextrosa	Inulina	Gomas	Celulosa	Ceras
Metilcelulosa (NF)	FOS	Mucílagos		Saponinas
Almidón resistente (FI)	GOS	Alginatos		Compuestos fenólicos (Taninos)
		Carregénatos		
		Galactomanano	Hemicelulosa	
Fibra soluble		Fibra insoluble		
Fermentable		Parcialmente fermentable	Muy poco fermentable	
(+70%)		(10-70%)	(-10%)	

Autor: Ángeles Carbajal Azcona. Departamento de Nutrición. Facultad de Farmacia.

La fibra insoluble (FI) aumenta el volumen de las heces hasta 20 veces su peso, debido a su capacidad de retención de agua, y se relaciona con la protección y alivio de algunos trastornos digestivos como estreñimiento y constipación (Matos, A. & Chambilla, E., 2010). Estas fibras insolubles aumentan la viscosidad luminal en el intestino. Material presente en el quimo, como fibra insoluble. o tejidos vegetales hidratados, también contribuyen en menor medida a la viscosidad general. La viscosidad es altamente sensible a los cambios en la concentración iónica que son debido a la secreción intestinal o la absorción de líquidos acuosos.

(Segura, F., et al 2007). Los métodos analíticos son muy importantes en investigaciones en nutrición puesto que constituyen la base para la interpretación de datos y evaluar componentes de un alimento, por lo tanto, definir la capacidad de un método, tanto desde el punto de vista analítico como de la interpretación de los resultados es tarea complicada. (Savón, L., et al. 2004), manifiesta que la composición química no refleja el valor nutritivo potencial de los alimentos, el cual depende, entre otros factores, de la calidad nutritiva de la fracción fibrosa, aspecto poco estudiado en alimentos. Esta última incluye no sólo su composición química y la estructura de sus paredes celulares, origen y naturaleza, sino también de sus propiedades físicas, las que permiten predecir sus efectos en las funciones gastrointestinales y metabólicas del organismo animal. (Savón, L., et al. 2002), hace referencia a que la calidad de la fibra puede ser independiente de su composición química y se modifica considerablemente por sus propiedades físicas, considerando que estos factores como el tamaño de partículas, el volumen, la solubilidad capacidad de retención de agua, tamaño de partículas y las propiedades de superficie, así como la capacidad de adsorción de agua, capacidad tampón, capacidad de intercambio catiónico, la viscosidad y la fermentabilidad, pueden influir en procesos biológicos como el consumo y digestión de nutrientes.

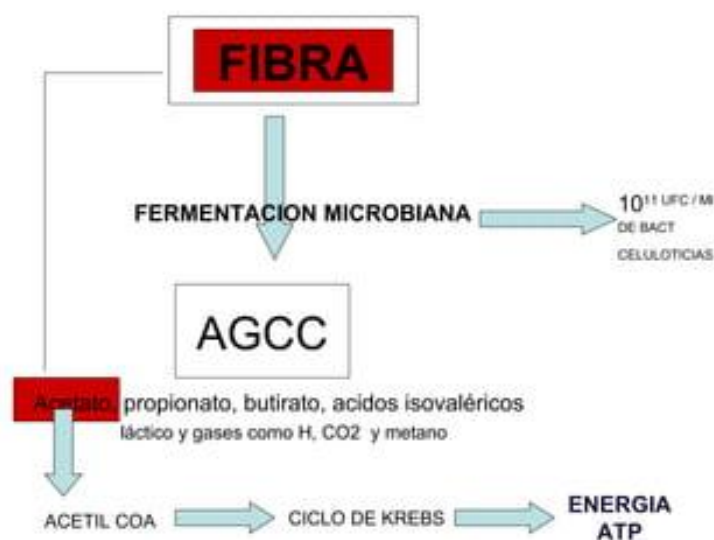


Figura 33. Importancia de la fibra en monogástricos.

De todos estos factores según (Bach, K. 2001), refiere que las principales propiedades físico-químicas del alimento con mayor importancia nutricional son la capacidad de intercambio catiónico, las propiedades de hidratación, la viscosidad y las propiedades de absorción de

compuestos orgánicos. (Savón, L., et al. 2002), también menciona que los factores que se han asociado con la disminución de la calidad nutricional de estas fuentes y por tanto con su utilización son: la presencia de fibra dietética y los denominados factores antinutricionales.

Por otro lado (Eastwood, M., 1992), cita que se puede establecer una clasificación de la fibra desde un punto de vista práctico en base a su grado de fermentación en el colon, lo que da lugar a dos tipos claramente diferenciados, fibra totalmente fermentable y fibra parcialmente fermentable. En la actualidad los dos conceptos más aceptados en torno a la fibra son; fibra fermentable, soluble y viscosa; y fibra escasamente fermentable, insoluble y no viscosa. El grado de fermentabilidad de cada fibra le va a conferir unas propiedades características. Además de los efectos conocidos de la fibra en la regulación del tránsito y ritmo intestinal, el avance durante los últimos años en el conocimiento del metabolismo de algunas fibras fermentables, como la inulina, los fructooligosacáridos (FOS) y los galactooligosacáridos, ha puesto de manifiesto su efecto prebiótico. (García, P., & Velasco, C. 2007) y (Rodríguez, A., et al. 2006) complementa que es también conveniente considerar la capacidad de adsorción de agua y capacidad de intercambio catiónico, factores entre otros capaces de modificar considerablemente la calidad de los alimentos e influir en el consumo y digestión de los nutrientes.



Figura 34. Análisis de fibra en alimentos.

Como resultado de esta complejidad, el análisis de fibra puede proporcionar sólo datos de una composición promedio de las paredes celulares en un alimento y no puede informarnos la influencia de tipos individuales de tejidos sobre el desempeño animal (Segura, F., et al 2007).

Como ya se mencionó en un párrafo anterior, existen parámetros que determinan las propiedades físicas del alimento, los mismos que deben ser considerados para una valoración efectiva de los alimentos para humanos y animales no rumiantes que todavía están siendo desarrollados técnicamente considerando que es una ciencia nueva y está en sus primeros pasos, según lo manifestado por (Savón, L., & Gutiérrez, O., 1999).

La capacidad de absorción de agua (CAA) que refleja la habilidad de la fibra para hincharse incrementado así el peso de las heces y diluyendo el contenido colónico. Dicho de otro modo, es una medida de habilidad de la fibra para inmovilizar agua en su matriz. (Savón, L., & Gutiérrez, O., 1999). Para (Rodríguez, A., et al. 2006), existen diferentes métodos para determinar la CAA, entre ellos se hallan: el de centrifugación, el de filtrado y el de capacidad de la fibra a resistir un gradiente, generado de polietilenglicol (PEG).

Para (Bach, K. 2001), señala que este parámetro también se le conoce como la capacidad de retención de agua de la fibra dietética y que se debería considerar la técnica de las bolsas de diálisis. Cada uno de los métodos mencionados dan resultados diferentes. Por tanto, es difícil hacer una comparación directa de los valores numéricos de la capacidad de fijación de agua obtenidos en diferentes estudios. La capacidad de retención de agua (WHC) y la capacidad de unión de agua (WBC) también se utilizan para describir las propiedades de hidratación y se han usado indistintamente en la literatura ya que ambas reflejan la capacidad de una fuente de fibra para incorporar agua dentro de su matriz. La capacidad de retención de agua está determinada por la estructura físico-química de las moléculas y por el pH y la concentración de electrolitos del fluido circundante. Por lo tanto, durante el paso por el intestino, la fibra dietética puede hincharse en un grado variable.

La capacidad de intercambio catiónico que manifiesta (Savón, L., & Gutiérrez, O., 1999), (Matos, A. & Chambilla, E., 2010); (Rodríguez, A., et al. 2006), es la habilidad de una fibra para captar cationes y quizás influir en algunos procesos que acontecen en los animales como el mantenimiento del equilibrio ácido básico. La disponibilidad de minerales y actividad

microbiana en el tracto digestivo. Esta propiedad puede estar ligada a la absorción de minerales y depende fundamentalmente del medio en que estén las fibras (Fuerza iónica, pH).



Figura 35. Capacidad de intercambio catiónico.

De esta forma a partir de las denominadas propiedades de superficie de la fibra como la capacidad de absorción de agua (CAA) y la capacidad de intercambio catiónico (CIC) es posible predecir sus efectos fisiológicos en el tracto gastrointestinal asociado a otros como la capacidad bufferante o tampón, volumen, solubilidad, viscosidad y tamaño de partículas. De ahí la importancia de la caracterización físico-química de las fuentes fibrosas. Del tamaño de la partícula de la fibra dietética, se indica que determina el área superficial de la pared celular que quedara directamente accesible a las secreciones digestivas y bacterianas. Mientras más fina sea el tamaño de la estructura celular, más posibilidades tendrá de ser completamente digerida (Savón, L., & Gutiérrez, O., 1999). Finalmente, los efectos fisiológicos más importantes son el efecto en el consumo voluntario, en las secreciones digestivas y absorción en el tránsito intestinal y en el metabolismo lipídico según (Savón, L., et al. 2002), que se le atribuye a la voluminosidad de estas raciones y a la capacidad de retención de agua de las porciones solubles de la fibra.

Para el caso de rumiantes (Calsamiglia, S. 1997) nos da a conocer que, los forrajes constituyen el componente fundamental de las raciones en la mayor parte de los sistemas productivos de estos. (De Boever, J., et al 1989), indica además que, de las sustancias nutritivas esenciales, la dieta del rumiante debe contener una cantidad mínima de material estructural y (De Boever, J., et al 1993), señalan que el mayor conocimiento del contenido de estructura física de los alimentos groseros para rumiantes es necesario.

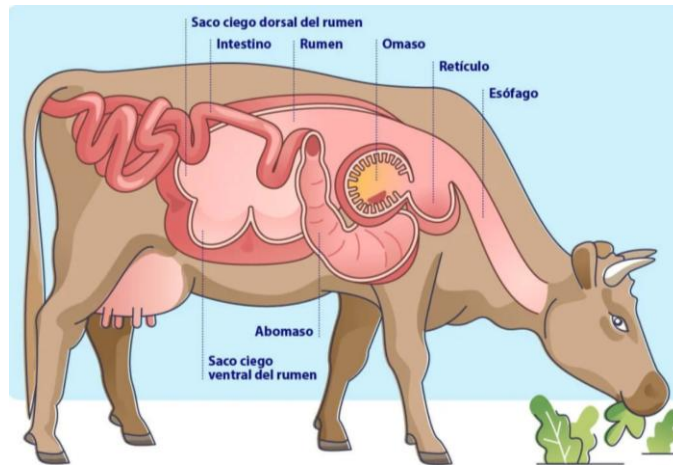


Figura 36. Sistema digestivo en rumiantes.

Problemas asociados con la falta de estructura física puede ocurrir en una mayor proporción de concentrado a forraje de manera especial en vacas altas productoras. Que este parámetro (estructura física de los alimentos), se puede medir a través del índice de masticación (C.I.) e índice de rumia (R.I). A su vez (Cruz, M. & Sánchez, J. 2000), mencionan que es indispensable para mantener la funcionalidad ruminal, estimular el masticado y la rumia y mantener un pH ruminal adecuado que permita la buena salud y digestión. Así la fibra tiene implicaciones importantes en las prácticas de alimentación del ganado lechero al afectar la salud, la producción y servir para estimar el contenido de energía de los forrajes y alimentos, así como el consumo voluntario. De hecho, la falta de estructura física de la ración puede resultar en una ingesta reducida de alimento, trastornos de salud (acidosis, paraqueratosis del epitelio ruminal, hinchazón, desplazamiento del abomaso, laminitis, etc.), aumento de la deposición de grasa corporal y reducción contenido de grasa láctea.

Comer y rumiar estimulan la secreción de saliva y así aumentan la capacidad amortiguadora del fluido ruminal, la actividad de masticación, y especialmente la actividad de rumia se ve muy afectadas por la naturaleza del alimento. Y se demostró que la rumia aumenta con el contenido de la pared celular de los forrajes gruesos. La rumia depende aún más de la facilidad de triturar partículas fibrosas y, por tanto, de las propiedades físicas de la fibra, entre estos, longitud, forma, fragilidad específica, gravedad específica y tasa de aumento de la gravedad específica debido a la hidratación e intercambio iónico (De Boever, J., et al 1989).

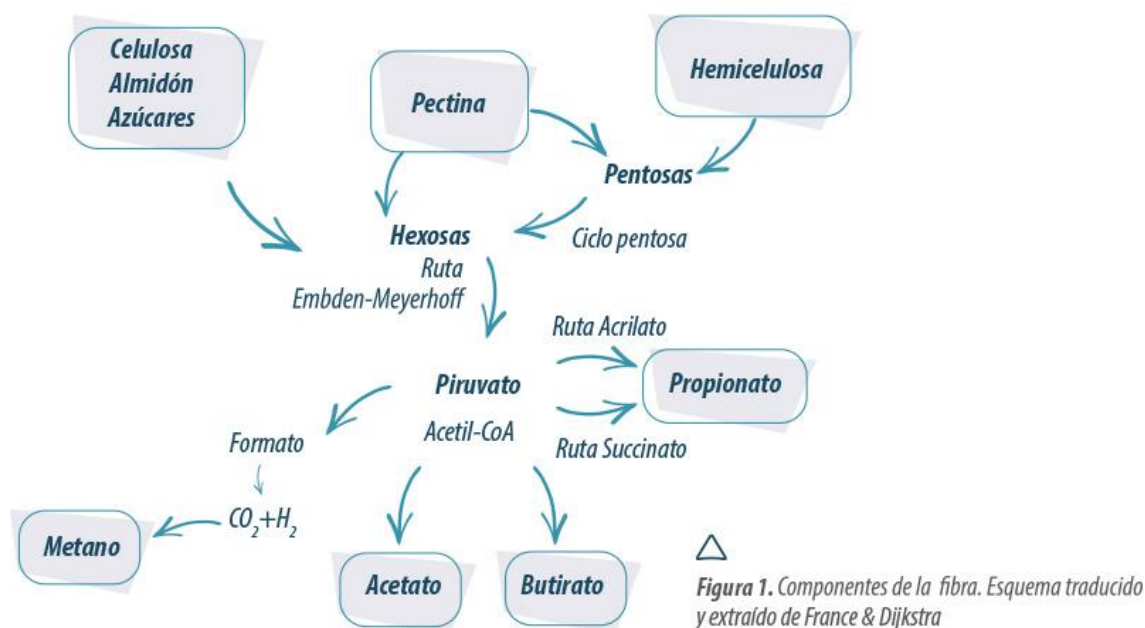


Figura 37. Utilización de glucidos en rumiantes.

Las características nutricionales de la fibra no sólo dependen de su composición, sino de las interacciones entre sus componentes y de la forma cómo se presenta al animal. Por estas razones, no es suficiente con considerar únicamente el análisis químico como método de valoración de la calidad de un forraje, y es necesario observar el tamaño de partícula y el manejo de la ración (Calsamiglia, S. 1997). Este análisis (tamaño de la partícula), también de reciente ajuste, se realiza pasando una muestra del forraje a través de un sistema de tamices con tamaños de poros estandarizados.

Este análisis es un buen indicador de la efectividad de la fibra del forraje, entonces se ha dado lugar a la aparición del concepto de "fibra efectiva" o "fibra funcional" o "FND-efectiva = FNDe" denominada fibra detergente neutra efectiva (FDNe) (Gallardo, M. 2006). La "fibra efectiva", conocida también como "fibra funcional" o "FDN-efectiva=FDNe" puede definirse como la capacidad real de la fibra para estimular la rumia y la salivación, que resulta en el mantenimiento de las condiciones ruminales óptimas para la producción de leche, y depende del tipo, la forma y el tamaño de la fibra que estimula la rumia (Calsamiglia, S. 1997).



Figura 38. Fibra digestible.

(Sudweeks, E., et. al. 1975), sostienen que la alimentación con altos niveles de energía, restringiendo las raciones con forraje es la responsable de trastornos tales como abscesos en el hígado en el ganado de carne y abomaso desplazado, y reducción de la grasa de la leche en vacas productoras. Además (Calsamiglia, S. 1997), asevera que, a más de los problemas anteriores, la falta de fibra resulta en una, acidosis y laminitis, debido a desequilibrios físicos (falta de llenado ruminal) o fermentativos (reducción del pH ruminal con la consecuente acidosis) y que estos efectos se redujeron o desaparecieron a medida que el grano reemplazó al heno largo en la ración (Sudweeks, E., et. al. 1975). En cambio, el exceso de fibra reduce la capacidad de ingestión de alimentos, la digestibilidad de la ración, la síntesis de proteína microbiana ruminal, y el aporte de energía. Por el contrario, en animales de alta producción en los que la ración debe tener una elevada densidad energética, las recomendaciones se preocupan de establecer mínimos contenidos de este componente (Calsamiglia, S. 1997).

Con el fin de resolver estos problemas de la fibra en rumiantes, se desarrolló el sistema en forma de FND-e en porcentaje de la materia seca ingerida. La implementación de este concepto en la práctica tiene dos problemas:

- A. La disponibilidad de valores de FND-e de los alimentos es limitada, existiendo solo pocos valores reportados por las universidades de Cornell y Michigan, siendo probable que los valores estimados por la universidad de Cornell se acerquen más a la realidad que los utilizados por la universidad de Michigan.

B. La determinación práctica del valor FND-e en función del tamaño de partícula es difícil de estandarizar (Calsamiglia, S. 1997).

Por su lado (Yang, W., & Beauchemin, K., 2007), informan que la NDFe mide las características físicas de la fibra teniendo en cuenta el tamaño de partículas, longitud y contenido de FDN, que favorecen la masticación y el flujo de amortiguadores salivales al rumen. Sin embargo, las respuestas obtenidas de estos estudios han sido algo poco concluyentes.

Para (Juan, L., et al. 1995) & (Undersander, D., et al 2011), mencionan en la actualidad se ha redefinido el concepto de calidad de forrajes para la alimentación de rumiantes, a partir de la Fibra Neutro Detergente (FND) y la Fibra Detergente Ácida (FAD), esta estrategia de valoración de forrajes ha estimulado a investigadores de la Universidad de Minnesota a desarrollar un índice de calidad de forrajes denominado: el Valor Relativo de Forrajes (VRF), conocido también como “Valor Nutritivo Relativo” (VNR). El Valor Relativo de los Forrajes (VRF), combina los factores nutricionales más importantes (el potencial de ingestión y su digestibilidad).

- El potencial de ingestión viene determinado por el contenido de FND según la siguiente fórmula:

$$IMS (\%PV) = \frac{120}{FDN(\%MS)}$$

- La digestibilidad de la MS se calcula en función del contenido en FAD:

$$DMS(\%) = 88,9 - (0,779 \times FAD \%)$$

- El valor relativo de los forrajes (exceptuando el ensilado de maíz) se calcula como:

$$VRF = \frac{(DMS \times IMS)}{1,29}$$

Donde:

- ✓ MS = materia seca
- ✓ IMS = ingestión de MS
- ✓ DMS = digestibilidad de la MS

Tabla 4. Clasificación de calidad de leguminosas, gramíneas y sus mezclas según el sistema VRF o VNR

Clasificación	% Materia Seca		
	FND	FAD	VRF
Excelente	< 41	< 31	> 151
Primera	40 – 46	31 – 35	151 – 125
Segunda	47 -53	36 – 40	124 – 103
Tercera	54 – 60	41 – 42	102 – 87
Cuarta	61 – 65	43 – 45	86 – 75
Quinta	> 65	> 45	< 75

Autor: Adaptado de Undersander, D., et al 2011.

1.5.3 PRUEBAS BIOLÓGICAS

(Posada, S., *et. al.* 2012), hace referencia que el análisis químico no es suficiente para conocer el valor nutritivo de los alimentos, siendo también importante considerar los procesos asociados con su digestión, absorción y metabolismo. Los métodos biológicos son los que de alguna manera hacen uso de elementos biológicos para analizar una muestra (extracto de enzimas, líquido ruminal) o animales de laboratorio (ratas o pollos). Generalmente son utilizados para la simulación de procesos digestivos de los animales. Permiten determinar el efecto de un alimento sobre el estado nutricional de un animal, la utilización de este o deficiencias de nutrientes Cozzolino, D. (2002). De acuerdo con (Dieter Hess, H. 1998), uno de los análisis biológicos más importantes es el de la digestibilidad. La digestibilidad aparente se define como la diferencia proporcional entre la cantidad de nutrientes ingeridos con el alimento y aquellos excretados en las heces. Por lo tanto (Garcia, F., 2009) amplía que el método *in vivo* consistente en la cuantificación exacta del alimento consumido y la recolección cuantitativa de todas las heces producidas y (Tobal, C., 2020) añade que este método a pesar de lo real que son las evaluaciones se producen variaciones debido tanto a factores propios del animal y también del alimento. (Ramírez, R. 2009) señala que mediante las pruebas de la digestibilidad *in vivo* en rumiantes se aportó un entendimiento significativo del valor nutritivo de los forrajes, en el caso de los rumiantes.



Figura 39. *Análisis in vivo.*

(Theodorou, M. & France, J. 2007). Expresan que se han desarrollado varios métodos para caracterizar los alimentos en términos de su digestibilidad. Estos comprenden métodos *in vivo*, *in situ* e *in vitro* y (Fuentes, J., et al., 2019), perfeccionan que estas determinaciones están íntimamente relacionadas. (Carmona, E., et al., 2012) y (Vega, M., 2009) extienden que la digestibilidad es la base de las metodologías de evaluación biológicas de los alimentos. (Manriquez, J., 2006) complementa que este sistema de valoración constituye un indicador de la calidad de la materia prima que varía notablemente de una especie a otra. (Higinio, V., 1995) menciona que dentro de las evaluaciones *In vivo* es imprescindible que los animales presenten condiciones homogéneas, deben de estar en jaulas individuales que permitan cuantificar el alimento ingerido, colectar las heces y la orina.

(McDonald, P., et al., 1995) manifiesta que los métodos en los que se emplea animales, el alimento se debe ser suministrado a los mismos en cantidades conocidas, en ciertas especies como en las aves es más complicado debido a que las heces y la orina se excretan por el mismo conducto, la cloaca.

De estas pruebas *In vivo* (Carmona, E., et al., 2012), reconocen que el momento en el cual se debe iniciar y finalizar la recolección de las heces puede ser un inconveniente en este método, sin embargo, se soluciona por medio de la adición de sustancias marcadoras al alimento que teñirán las heces que no hacen parte del estudio. El marcador se adiciona en la última ración del alimento del periodo de adaptación y en la primera ración que se suministre después de

terminado el alimento experimental, de esta manera las heces que no deben ser recolectadas estarán teñidas y determinarán el inicio y la finalización de la recolección.

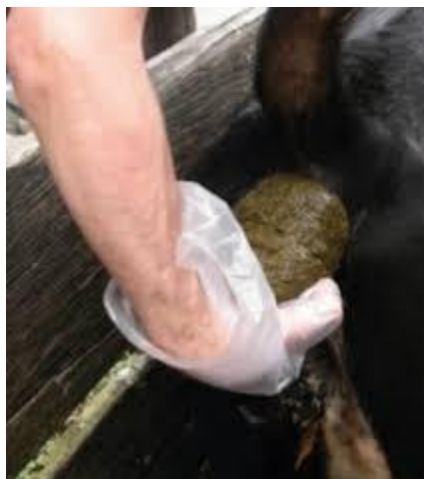


Figura 40. Recolección de muestras de heces.

(Narváez, W., et al., 2012), agregan que la digestibilidad se expresa ya sea como coeficiente que representa la absorción de los nutrientes consumidos sin contar con la cantidad de nutrientes de carácter endógeno, o en porcentaje lo cual puede ser calculado en las heces denominado coeficiente de digestibilidad aparente y el coeficiente de digestibilidad verdadera al descontar los nutrientes de origen endógeno excretados.

En su opinión (Torres, G., et al., 2009) soporta que otra alternativa para medir la digestibilidad de los alimentos es mediante el uso de enzimas. Aquí, el licor ruminal es reemplazado por una solución de celulasa, enzima proveniente del hongo *Penicillium funiculosum*. Este método es de fácil aplicación y de bajo costo, no siendo necesario el uso de animales de experimentación.

Los métodos *in vitro* que han sido utilizados más ampliamente desde su introducción en 1963 son el de Tilley y Terry (Tilley, J., & Terry, R., 1963); (Giraldo L., et al, 2007) y el de Van Soest y colaboradores en 1966 (Van Soest, P., et al 1966), considerados los procedimientos más exactos para la predicción de la digestibilidad en rumiantes (Goldman, A., 1987); (Stern, B., & Calsamiglia S., 1997). El método de Tilley y Terry se considera un método referente para calcular la digestibilidad en alimentos para rumiantes, el cual ha sido modificado y adaptado según el tipo de alimento a analizar (Aufrere, J., & Doreau, B., 1988), al igual que

se han desarrollado y probado diferentes tampones de dilución para ajustar el pH del inóculo
(Grant, R., & Mertens, D., 1992).



Figura 41. Equipo Daysi II para digestibilidad.

Por otro lado (Ayanz, A., 2006) dice que el método in vitro puede medirse por procedimientos químicos que intentan imitar el proceso de digestión generalmente por el sistema de Van Soest el cual trata de una aproximación de laboratorio al proceso real de la digestión y (Martínez, R., et al., 2014) indica que este método (*In vitro*), es una determinación de la calidad de los alimentos ampliamente difundida que presenta una alta correlación con los resultados in vivo.

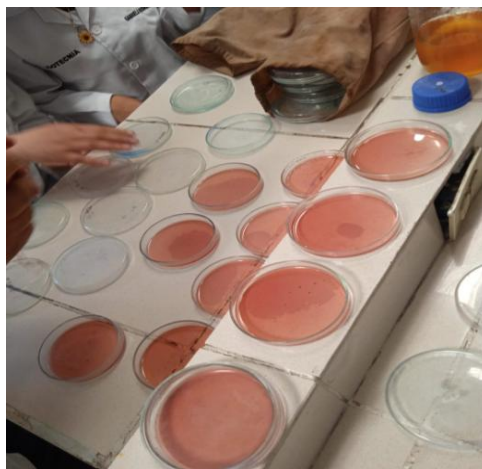


Figura 42. AINIA Análisis de alimentos in vitro.

(Colombatto, D. 2003), idealmente, por ejemplo, en el caso de rumiantes, estos análisis químicos debieran ser complementados con análisis dinámicos de fermentación ruminal (análisis in vitro) para obtener una caracterización más acabada de su valor nutritivo. (Gallardo, M. 2006) hace referencia y considera algunos aspectos de la digestibilidad in vitro, en donde observa por ejemplo que la digestibilidad in vitro de la materia seca (%DIVMS), indica indirectamente cuánto alimento quedará retenido en el tracto gastrointestinal para ser digerido (en rumen e intestinos). Y para la fibra detergente neutro-digestible (FDN digestible). Es el más nuevo de los análisis. Se determina mediante una técnica in vitro similar a la DIVMS.

Hoy, la técnica de la bolsa en rumen o in sacco, dice (Pedraza, R., 2001), es posiblemente el método más utilizado, a pesar de que se le han señalado algunos inconvenientes. El método in sacco, también denominado de la bolsa de nylon o in situ, tiene como objetivo fundamental medir la desaparición de materia seca y orgánica, el nitrógeno u otro nutriente de los alimentos sometidos al efecto del ambiente ruminal; para ello los alimentos son colocados en bolsas que se incuban en el rumen, a través de una cánula permanente. Inicialmente el método se utilizó exitosamente para evaluar diferentes alimentos y para determinar la efectividad del tratamiento con formaldehído a los suplementos proteicos.

Al respecto (Quins, J. L., *et. al.* 1939), mencionan que en los primeros experimentos se usaron bolsas de seda, las que fueron reemplazadas posteriormente por otros tejidos como el

nylon, el poliéster y el dacrón. Inicialmente el método se utilizó exitosamente para evaluar diferentes alimentos y para determinar la efectividad del tratamiento con formaldehído a los suplementos proteicos. (Demarquilly C. *et. al.* 1969). Según manifiestan (Mehrez, A & Ørskov E. 1977), los resultados de dichos estudios eran obtenidos a partir de un solo tiempo de incubación, lo cual presentó algunos puntos débiles y propusieron el uso de este método como rutina para evaluar el rango de degradabilidad ruminal de las proteínas, incubando varias bolsas con vistas a obtener una evaluación cinética de la degradación.

Por su parte (Van Soest, P. J. *et. al.* 1978), han sugerido el uso de los datos de la cinética de degradación para mejorar la estimación del valor nutritivo de los alimentos, cuando se utilizan tanto métodos *in vitro* como *in sacco*. Este enfoque dinámico mejoró marcadamente el potencial de esta técnica, como fue demostrado por (Ørskov, E. *et. al.* 1980) en la evaluación de forrajes. (López, S., 2005), menciona, aunque las determinaciones de la digestibilidad *in vivo* total, incluyendo la degradabilidad *in situ* o *in vivo* parcial, o de la bolsa de nylon son consideradas las más exactas, este es un proceso laborioso y costoso que requiere el empleo de altas cantidades de alimento, uso de alta mano de obra y la disposición de instalaciones para su cuidado. (González, H., et al 2015), alude en que el método *in situ* se asemeja al método *In vivo* en todo, excepto en la falta de masticación, la rumia y el paso del alimento a través del tracto posterior.



Figura 43. *Análisis in situ.*

(Mehrez, A., y Orskov, E., 1977); (Araiza, E., *et. al.*, 2013), propusieron el uso de este método como rutina para evaluar el rango de degradabilidad ruminal de las proteínas, incubando varias bolsas con vistas a obtener una evaluación cinética de la degradación. La técnica *in situ* consiste en colocar la muestra en bolsas sintéticas e incubarlas en el rumen de

animales fistulados para obtener el grado de degradabilidad. Finalmente (Gallardo, M. 2006), refiere que mediante la técnica de “bolsitas de nylon” incubadas durante determinados períodos de tiempo en el rumen de un animal canulado, se determina las proteínas degradables y no degradables en rumen (%PDR - %PNDR)

Otro de los métodos más modernos es la técnica de producción de gas in vitro y que esta técnica es comúnmente usada para conocer el valor nutritivo de los forrajes usando como inóculo bacterias ruminales (Ahmed, M., & El-Hag, F., 2004), y que esta técnica es utilizada para evaluar el valor nutricional de los alimentos y para obtener un mejor conocimiento de los procesos de fermentación que ocurren frecuentemente en el rumen, ya que la esencia de esta técnica es simular la fermentación de éste (Alvarez, D., 2009). Según (Wawrzekiewicz, M., & Danelón, J.L., 2004), mencionan que la técnica de producción de gas fue considerada entre las más promisorias para valorar la calidad de los alimentos para rumiantes porque:

- 1) Permite estudiar la cinética del proceso fermentativo
- 2) Es de baja demanda de mano de obra
- 3) Posee menor costo por unidad de muestra estudiada comparada con las evaluaciones in vivo
- 4) Es relativamente sencilla y rápida

Por su lado (Blümmel, M., *et al.*, 1997), manifiestan que, en 1939, en un temprano intento, se trató de medir la producción de gas directamente a través de la cánula ruminal en ovinos, la técnica era muy difícil de aplicar y de baja reproducibilidad; después, (McBee, R.H. 1953) publicó un método manométrico para cuantificar el gas producido por bacterias ruminales. Menke y Ehrensward (1974), citados por (Theodorou, M., *et al* 1994), al estudiar la estequiometría de la fermentación ruminal con un sistema cerrado de jeringuilla, notaron una producción de gas muy reproducible cuando un mismo sustrato fue incubado en diferentes corridas experimentales.

En el documento publicado por (Menke, K., *et al* 1979) el sustrato es incubado en una jeringuilla calibrada, en la que el desplazamiento de su pistón permite realizar mediciones del volumen de gas producido durante un periodo de 96 horas; el medio de incubación incluye

líquido ruminal, solución de nutrientes y un buffer. Este método ha sido simplificado y mejorado, por ejemplo, (Theodorou, M., *et al* 1994), propusieron el empleo de botellas cerradas en vez de jeringuillas, y utilizar un medidor de presión para estimar la cantidad de gas producido.



Figura 44. Jeringa calibrada.

La mayor innovación del método de producción de gas es la medición de la producción de gases proveniente de la degradación de la muestra, en lugar de medir directamente dicha degradación, (Pedraza, R., 2001). La cantidad de gas producido por la incubación *in vitro* de un sustrato está íntimamente relacionada con su digestibilidad y por tanto con su valor energético (Menke, K. *et al*, 1979); (Menke, K & Steingass H, 1988). La producción de gas puede predecir la degradación efectiva de la materia orgánica (Dhaona, M., *et. al.*, 2004). El primer uso de esta técnica fue evaluar el valor energético de los alimentos; no obstante, ha sido también utilizada para evaluar la presencia de compuestos antinutritivos en algunos piensos (Davies, Z., *et. al.* 2000), así como para predecir la desaparición aparente de almidón en el rumen (Rymer, C. & Givens, D. 1999). Diferentes artículos publicados refieren el uso de la técnica de producción de gas *in vitro* como método para estudiar el efecto de factores antinutritivos (Pedraza, R., 2001).

1.1. PRUEBAS MICROBIOLÓGICAS

La contaminación de los alimentos es una consecuencia directa de las deficiencias sanitarias durante su proceso de elaboración, manipulación, transporte, almacenamiento y las condiciones en que son suministrados al productor (Blanco, F., *et al.* 2011). La principal causa de deterioro de los alimentos es el ataque por diferentes tipos de microorganismos. El problema del deterioro microbiano de los alimentos tiene implicaciones económicas evidentes, tanto para los fabricantes, como para distribuidores y consumidores, además que

los alimentos alterados pueden resultar perjudiciales para la salud del consumidor (León, M., 2017).



Figura 45. Análisis microbiológico en alimentos.

La vida útil de un alimento se define como el tiempo finito después de su producción en condiciones controladas de almacenamiento, en las que tendrá una pérdida de sus propiedades sensoriales y fisicoquímicas, y sufrirá un cambio en su perfil microbiológico.

Entre los grupos de microorganismos que pueden desarrollarse en un alimento se encuentran: bacterias y hongos, los cuales son capaces de multiplicarse en los alimentos y deteriorar el producto; además de protozoarios y virus, que, aunque no se desarrollan en los alimentos, utilizan a estos como vehículo (Carrillo, M., & Reyes A. 2013).

Para los análisis microbiológicos es importante identificar en forma precisa el microorganismo involucrado, para ello debemos obtener un cultivo evitando la contaminación de origen ambiental. Siendo entonces indispensable un resultado veraz por parte del laboratorio; debemos descartar o eliminar falsos positivos causados por esta clase de microbiota (Rojas, A., 2011).

Finalmente las enfermedades transmitidas por alimentos (ETA) son el resultado de una amplia variedad de productos comestibles contaminados por microorganismos patógenos, toxinas o sustancias químicas. La prevención de las enfermedades de transmisión alimentaria depende de la manipulación cuidadosa de los productos crudos y de los productos terminados en la cadena de producción. La inocuidad y la calidad de los productos comestibles

constituye, juntamente con su disponibilidad y el acceso de los consumidores a estos y la estabilidad, uno de los pilares más relevantes de la seguridad alimentaria. La contaminación microbiana especialmente es debida a bacterias, hongos, virus y parásitos.

(Bayona, M., 2009). Al respecto (Carrillo, M., & Reyes A. 2013), indican que:

- **Las bacterias:** Son células procarióticas, poseen paredes celulares con peptidoglicano, se las puede clasificar como bacterias Gram negativas y bacterias Gram positivas.
- **Los virus:** Constituyen una clase importante de microorganismos, que no son células. Carecen de muchos atributos de las células. Aunque contienen sus propios genes, carecen de ribosomas, por tanto, dependen de la maquinaria biosintética de la célula que infectan, para sintetizar proteínas.
- **Los parásitos:** Son organismos unicelulares (protozoarios) o multicelulares (helminths). Son transmisibles por los alimentos. No se multiplican en los alimentos.
- **Los protozoarios:** Son células eucariotas (con núcleo verdadero rodeado de membrana).

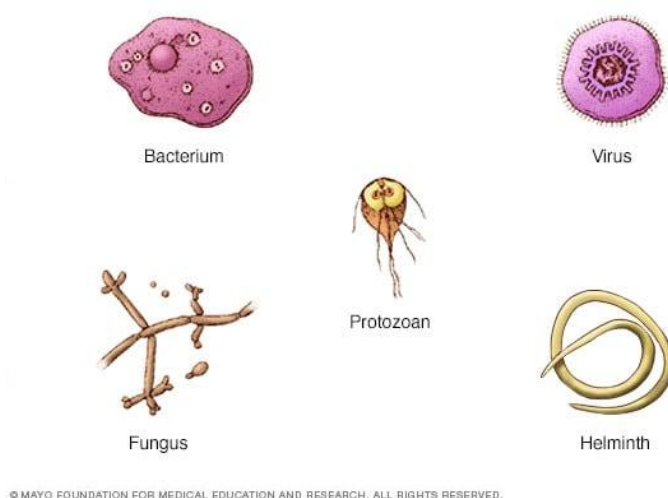


Figura 46. Clasificación de los gérmenes.

El análisis microbiológico se realiza entonces con vistas a identificar y cuantificar los microorganismos presentes en un producto, así como también constituye una poderosa herramienta en la determinación de la calidad higiénico-sanitaria de un proceso de elaboración de alimentos, lo que permite identificar aquellas etapas del proceso que puedan favorecer la contaminación del producto (Méndez, L., 2020).

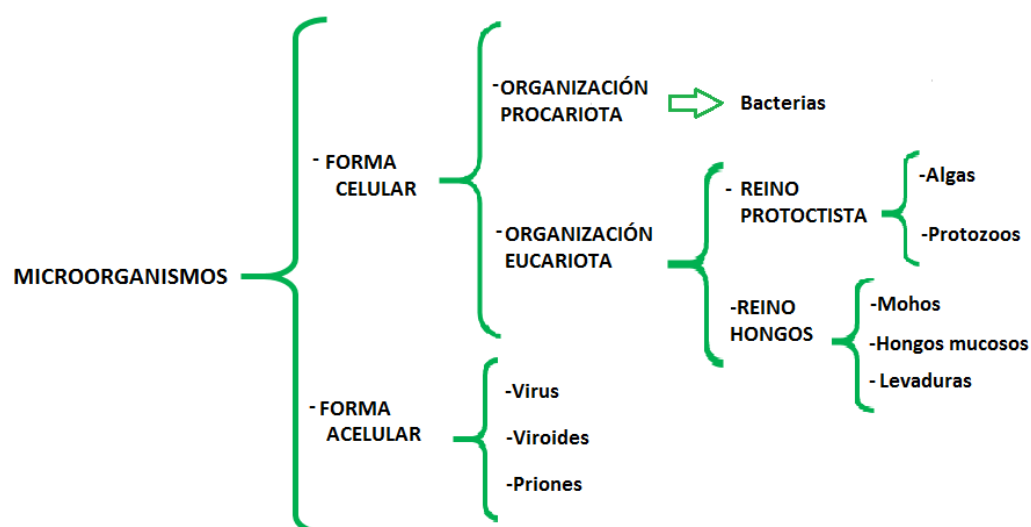


Figura 47. Clasificación de los microorganismos.

1.5.4 ANÁLISIS SENSORIAL O PRUEBAS ORGANOLEPTICAS

Constituye una disciplina científica que permite evaluar, medir, analizar e interpretar las características sensoriales de un alimento (color, olor, sabor y textura) mediante uno o más órganos de los sentidos humanos. A pesar de que la evaluación sensorial es el análisis más subjetivo, pues el instrumento de medición es el ser humano, muchas veces define el grado de aceptación o rechazo de un producto (Méndez, L., 2020).

Para (Martínez, A., 2015), es una valoración inicial para establecer si la materia prima se encuentra en condiciones de ser utilizada en la alimentación de los animales. (Juan, N., *et al.*, 1995), complementa que la evaluación organoléptica es la evaluación hecha a través de los sentidos de la vista, olfato y tacto. Si bien este método es válido como una primera apreciación, no brinda adecuada información acerca del potencial nutritivo del forraje, y debe ser complementado con otros parámetros menos subjetivos.

Gallardo, M. 2006 realiza consideraciones de algunos de los parámetros, por ejemplo, en cuanto al color, manifiesta que existen una gama de colores del verde al marrón oscuro que es un indicador de las condiciones de almacenamiento, del grado de humedad del material, la ocurrencia de reacción de Maillard y también de la presencia de hongos. Con respecto al olor y la textura se manifiestan diferentes percepciones particulares para cada alimento.



Figura 48. Evaluación Sensorial.

1.6 VALORACION ENERGÉTICA DE LOS ALIMENTOS.

Para (Cabrera, A., 2014), la energía puede definirse como la capacidad para realizar un trabajo, el término energía y su metabolismo es conocido como bioenergética. La energía representa, cuantitativamente, el componente más importante de la dieta de los animales y todos los estándares de alimentación se basan en las necesidades de energía. La energía puede definirse en términos de calor y expresarse en forma de calorías. (Wiseman, J., & Cole, D., 1990) comentan que los sistemas de evaluación de alimentos para animales de granja se basan en el conocimiento de dos conjuntos separados de información: el requerimiento de los nutrientes por parte del animal por un lado y la capacidad del alimento o combinación de ingredientes dietéticos para cumplir con este requisito por el otro.

Según lo manifestado por (Sainz, R., et al 1994), señalan que varios sistemas han sido desarrollados en diversos países para la valoración de alimentos y estimación de las necesidades nutricionales del animal. Cada sistema tiene sus ventajas y desventajas, y debe ser evaluado de acuerdo con los objetivos de este y las condiciones en las cuales será aplicado. El sistema de alimentación NRC, por ejemplo, abarca los nutrientes más importantes, tanto desde el punto de vista de la valoración de alimentos, como también de las necesidades del animal.

Las necesidades más importantes para rumiantes son la energía y la proteína, aunque desde luego estos nutrientes no serían capaces de sostener la producción si hubiese un desequilibrio, por ejemplo, en los minerales. Para (Cozzolino, D., 2002), existen muchas formas de expresar

los requerimientos energéticos de los animales y el valor energético de los alimentos. Según el esquema convencional de partición de la energía, estos indicadores pueden ser:

- ED - energía digestible
- EM - energía metabolizable
- ENm - energía neta de mantenimiento
- EN - energía neta de producción

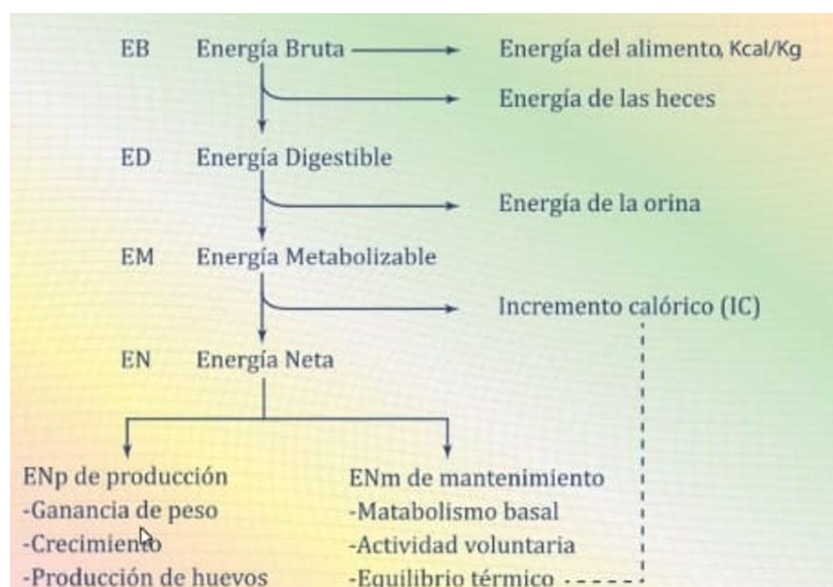


Figura 49. Esquema de fraccionamiento de la energía.

Complementado por (Sainz, R., et al 1994), que mencionan que se debe tomar en cuenta también la energía bruta (EB), e incremento de calor (IC). (McDonald, P., 2010) y (Jara, M., 2018) integran lo antes citado al indicar que los animales necesitan los nutrientes orgánicos para la formación de tejidos corporales o síntesis de productos como leche, huevos, etc., además son necesarios como fuente de energía para el trabajo realizado, y que todas estas funciones tienen un denominador común: la transferencia de energía, lo que se denomina la necesidad o requerimiento de energía por parte del animal y que es retenida por un animal para sus producciones. Y por otro lado está la energía total contenida en un alimento y que provienen de los nutrientes de este como son glúcidos, grasas y proteínas y que solo una parte de estos constituyentes puede ser retenida por el animal.

Por lo tanto, no sorprende que se haya prestado una atención considerable al desarrollo de sistemas para expresar tanto los requerimientos energéticos de los animales como el valor energético de los alimentos, lo que vamos a ver a continuación.

1.7 REQUERIMIENTOS ENERGETICOS

(Sainz, R., et al 1994). Desde el tiempo de Lavoisier, se ha reconocido que la energía ingerida por el animal no se transforma totalmente a tejidos corporales. Sin embargo, los fundamentos de los actuales sistemas de alimentación se encuentran en los trabajos, de principio de este siglo, de varios investigadores, incluyendo Von Voit, Armsby, Atwater, Kellner y Rubner. (Elizondo, J., 2020) menciona que la energía es requerida por todos los animales para llevar a cabo un “trabajo” pero no solamente se refiere a llevar una carga sobre el lomo o a arrastrar una carreta también tiene que ver con ejecutar una serie de funciones metabólicas como respirar o digerir los alimentos, hasta aquellas más demandantes como crecer, reproducirse o producir carne, leche, huevos, lana, etc.

Complementado por (Maynard, L., et al. 1988) que indica que estos procesos metabólicos incluyen también la circulación, mantenimiento de la tonicidad muscular, de secreciones internas, etc. Según lo indica (Blaxter, K. 1962), todos los animales obtienen su energía de la degradación de compuestos orgánicos (catabolismo).

La utilización de la energía ingerida de los alimentos por los animales envuelve varios tipos de pérdidas, solo una parte de los nutrientes se puede digerir dentro del organismo animal o ser parte de sus productos, el resto se excreta en las heces y es perdida por el animal en diferentes formas. La diferencia entre el valor de la energía bruta del alimento y el de la perdida en las heces asociadas con la digestibilidad aparente y se denomina energía digestible (E.D.).

De acuerdo con (De Campaneere, S. 2000), otra pérdida de energía se produce en forma de gases, principalmente metano. Esta pérdida es particularmente importante en rumiantes. Además de los gases, las pérdidas urinarias, que contienen sustancias orgánicas. La diferencia entre la E.D. y las pérdidas gaseosas y urinarias se denomina energía metabolizable (E.M.). Toda esa energía puede ser utilizada por el organismo, sin embargo, no toda la E.M. es útil para el animal ya que los animales producen calor continuamente, al ayunar, al masticar, al rumiar, al digerir, incluso los microorganismos en el rumen provocan una mayor pérdida de calor. Restar las pérdidas totales de calor del E.M. da la energía neta (E.N.), que

es la parte de la energía bruta que utiliza el animal para su mantenimiento o producción. (N.A.P. 1981), da a conocer que los requerimientos de nutrientes de los animales domésticos son complejos y cambian según el sexo, el estado fisiológico y una variedad de factores medioambientales. Según (Lofgreen, G., & Garret, W., 1968), el sistema introduce para efectos de cálculo los requerimientos o necesidades de los animales suelen dividirse en dos grupos: (Ayanz, A., 2006)

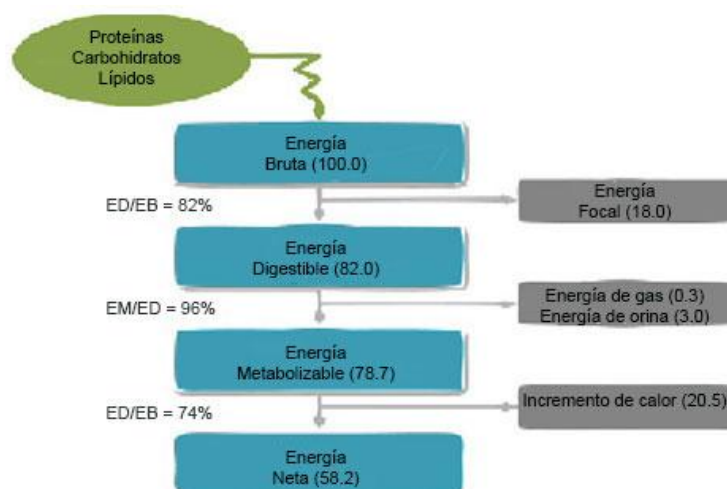


Figura 50. Proceso de degradación de compuestos energéticos en cerdos.

- **De mantenimiento:** permite a los animales cubrir sus necesidades mínimas para continuar viviendo, aunque sin ningún tipo de producción.
- **De producción:** una vez cubiertas las necesidades de sostenimiento, permiten a los animales producir algo útil para el hombre: carne, leche, crías, trabajo, etc.

Lógicamente, las necesidades alimenticias totales se calculan sumando las de mantenimiento y las de producción. Al respecto (Blaxter, K., 1972), reporta que el mantenimiento se puede definir como aquel estado en el que el cuerpo no presenta ni ganancia ni pérdida de nutrientes. Los requerimientos para el mantenimiento son las cantidades estimadas de nutrientes que se necesitan para conseguir tal estado de equilibrio, pues comprende la cantidad necesaria para mantener intactos los tejidos de un animal que no está creciendo, trabajando o produciendo. Según la (N.R.C. 2012), el requisito de energía para mantenimiento incluye las necesidades de todas las funciones corporales y una actividad moderada.

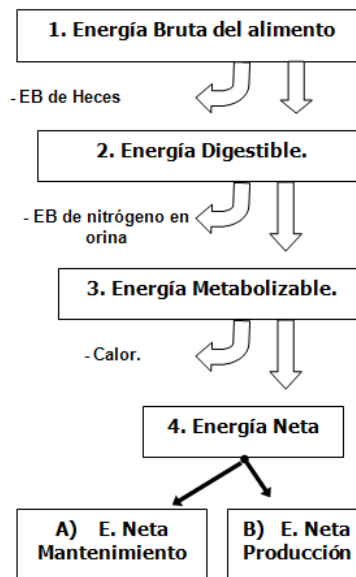


Figura 41. Fraccionamiento de energía (mantenimiento y producción).

Para (Maynard, L. et al. 1988), si no se cubre este requerimiento (mantenimiento), empieza el catabolismo tisular, que se manifiesta por una pérdida de peso con diversas consecuencias indeseables. Aunque el animal que no recibe alimento no realiza ningún trabajo externo y no produce, de todas maneras, efectúa una gran variedad de procesos internos que son esenciales para la vida y por la falta de alimento se produce la destrucción de sus propios tejidos. A la destrucción de los tejidos corporales se le llama "catabolismo de ayuno", siendo el punto de partida de este conocimiento (requerimientos de mantenimiento) el catabolismo en condiciones de ayuno. Esta fase ("catabolismo de ayuno"), está relacionado directamente con el metabolismo energético basal.

1.7.1 METABOLISMO ENERGÉTICO BASAL

Es la cantidad de energía que necesita o requiere un animal para cumplir sus funciones vitales en un período de postabsorción. El Metabolismo basal Refleja la necesidad de sostener los procesos vitales de un animal en estado de ayuno y reposo. Esta energía se utiliza para mantener vital la actividad celular, respiración y circulación sanguínea y se conoce como tasa metabólica basal (N.A.P. 1981). Estos requerimientos son generalmente expresados en base al peso metabólico del cuerpo y se define como el peso corporal elevado a la potencia 0,75

(BW^{0.75}), (N.R.C. 2012), siendo el calor de producción de ayuno el que representa la mayor proporción de mantenimiento. Para (N.A.P. 1981), el tamaño corporal metabólico (W^{0.75}) es el peso corporal en kilogramos de un animal elevado a la potencia de tres cuartos. Es útil para comparar las tasas metabólicas de animales maduros de diferentes tamaños corporales. Generalmente se utiliza el exponente .75, pero otros exponentes tienen mérito y pueden ser más apropiados en algunas situaciones.

Al hablar de peso metabólico podemos afirmar como definición que es el peso del animal que cumple el metabolismo basal energético.

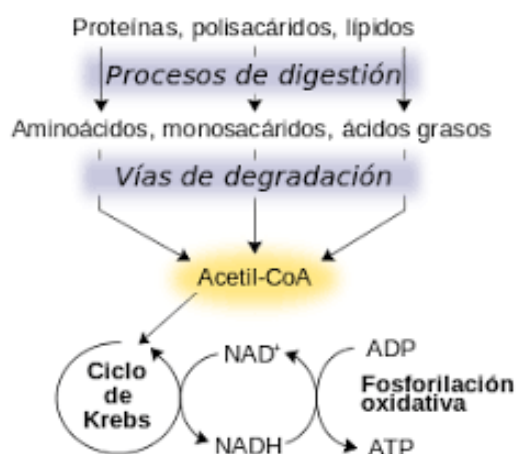


Figura 52. Ciclo de Krebs- metabolismo.

1.7.2 METABOLISMO DE AYUNO

Es la cantidad de energía que necesita o requiere un animal para cumplir sus funciones vitales en un período de ayuno y descanso por 24 horas. La energía utilizada por los animales en ayuno está representada por la producción de calor durante el mismo, por lo que se puede medir en el calorímetro respiratorio o por métodos de calorimetría indirecta. Su determinación provee bases de referencia para otras fases del metabolismo energético. Rubner desarrolló el concepto que con frecuencia se llama ley del área-superficial, en la que se establece que el calor disipado por todos los animales de sangre caliente es directamente proporcional a su superficie corporal y que, expresado en estos términos, la producción de calor es constante en todas las especies y que el metabolismo basal es aproximadamente de 1 000 kcal por metro cuadrado de superficie corporal por 24 horas, sin importar el tamaño del animal (Maynard, L. et al. 1988)

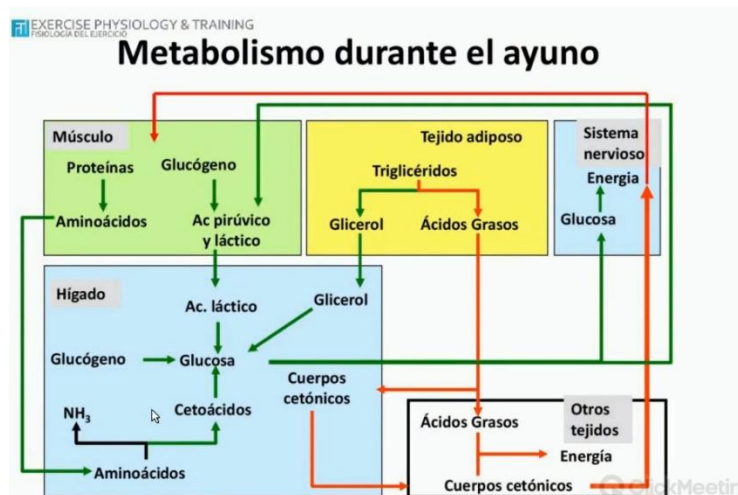


Figura 53. Proceso de metabolismo de ayuno

(N.A.P. 1981). El requerimiento de mantenimiento de energía aparte de las necesidades de metabolismo de ayuno requiere en términos generales de un 10% adicional para actividades tales como caminar, consumir y masticar el alimento, etc. Se puede calcular un margen adicional para las demandas de energía debidas a caminatas y en el caso particular para rumiantes en pastoreo extensivos, que varían según la llanura o pendiente del terreno. También se debe considerar el estrés por calor se describe por el grado de jadeo del animal (rápido/superficial, con la boca abierta). Etc.

Según la (N.R.C, 2012), también las necesidades de energía se ven afectadas por la interacción de los animales y el medioambiente (por ejemplo, temperatura del aire, velocidad del viento, materiales usados para la construcción de la vivienda, densidad de vivienda, etc. Para (Bondi, A., 1988), informa en cuanto a la temperatura del medioambiente que cuando esta es baja es decir crítica inferior, la temperatura se regula tiritando, mientras que, por encima de la crítica superior, los animales jadean, es decir, aumentan el ritmo respiratorio, aparte de sudar. Además, se pierde gradualmente la capacidad de termorregulación. Por lo tanto, el jadeo y el tiritar requieren más energía que la regulación del flujo de sangre periférica y el sudar.

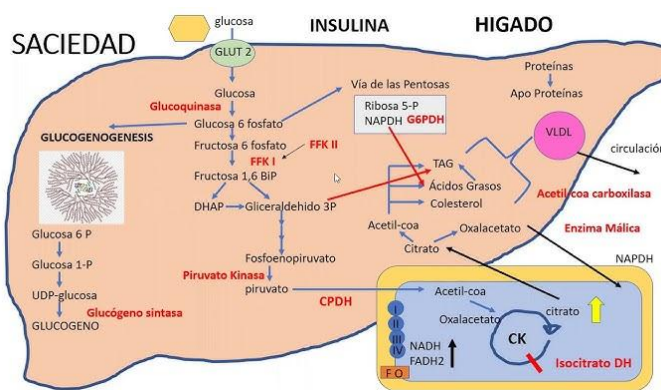


Figura 54. Integración metabólica del ayuno.

1.7.3 ENERGÍA NETA DE MANTENIMIENTO

Como ya se expresó anteriormente, la energía para mantenimiento incluye las necesidades de todas las funciones corporales, es decir la cantidad de energía producida en el metabolismo de ayuno y una actividad moderada, por lo que entonces, el concepto de energía neta de mantenimiento (E.N.m), es la cantidad de energía que necesita o requiere un animal para cumplir sus funciones vitales en un período de 24 horas sin ganar ni perder peso.

Según (N.R.C., 2000) Básicamente, se han utilizado tres métodos para medir los requisitos energéticos de mantenimiento. Estos incluyen el uso de:

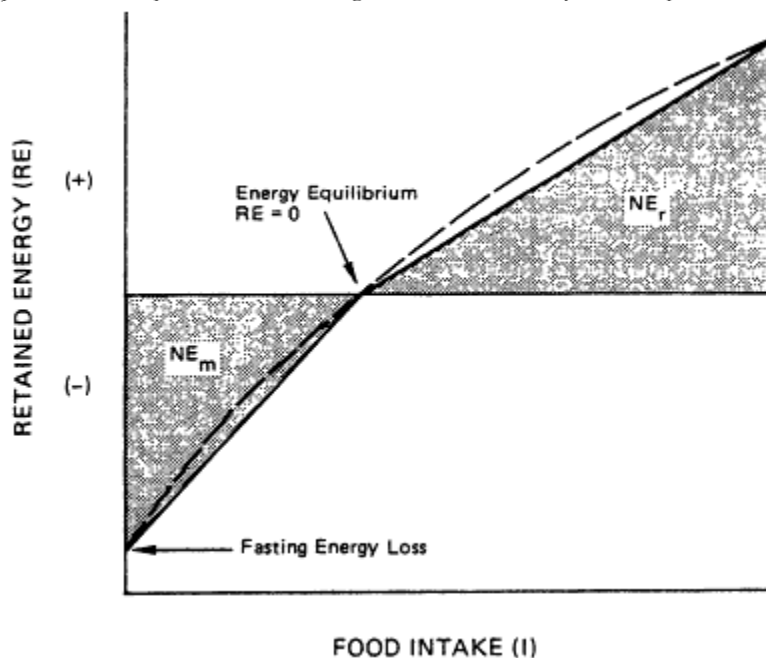
- Ensayos de alimentación a largo plazo para determinar la cantidad de alimento necesaria para mantener el peso corporal o, por el contrario, determinar el peso corporal mantenido después de suministrar una cantidad predeterminada de alimento durante un período prolongado (Taylor, S., et al., 1986);
- Métodos calorimétricos o (A.R.C., 1980)
- Sacrificio comparativo (Lofgreen, G., & Garret, W., 1968)

1.7.4 ENERGÍA NETA PARA PRODUCCIÓN

Una vez que los animales han cubierto los requerimientos de mantenimiento, los valores por encima de este lo utilizan los animales para producción (carne, leche, huevos, lana, etc.), en donde (Maynard, L. et al. 1988), considera que la ganancia neta en una empresa pecuaria está regida en gran parte por la capacidad del animal para consumir y utilizar el alimento en forma general y la energía de manera particular por encima de sus requerimientos de mantenimiento.

Para (McDonald, P., et al., 1995), hacen referencia que, aunque los animales pueden retener energía en una gran variedad de productos, grasa corporal, músculo, leche, huevos, lana, la energía de dichos productos se encuentra, fundamentalmente, en forma de grasa y proteína, por lo tanto, la eficiencia de la energía con fines productivos depende, básicamente, de la eficiencia energética de las rutas metabólicas necesarias para la síntesis de grasa y proteína a partir de los nutrientes absorbidos. Finalmente, (Bauza, R., 2012) añade que las formas de expresión de la concentración energética necesaria por el animal esta expresada en kcal o Mcal/día. Además, menciona que los requerimientos de energía son diferentes para cada especie de esta manera tenemos requerimientos nutricionales para aves, cerdos, peces, caballos, vacas lecheras, conejos, bovinos de carne, cabras, ovinos, etc.

Figura 55. Esquema de los requerimientos de energía de mantenimiento y retenida para las diferentes especies



Fuente: *Nutritional Energetics of Domestic Animals and Glossary of Energy Terms (N.A.P. 1981)*

1.7.5 ENERGIA DEL ALIMENTO

(Martínez, R., 2016), refiere que la determinación del valor energético de los alimentos es importante en el proceso de evaluación de estos, debido a que constituye la base fundamental para la formulación de raciones lo cual nos permitirá estimar en qué grado se han cubierto las necesidades energéticas de los animales, y predecir su productividad.

Por su lado (McDonald, P., et al., 1995), informa que los animales obtienen energía de los alimentos. La cantidad de energía química existente de los alimentos se determina convirtiéndola en energía calórica y midiendo el calor producido. La conversión se realiza oxidando el alimento, sometiéndole a combustión; la cantidad de calor producido en la combustión completa de una unidad de peso del alimento, se denomina energía bruta (E.B.), energía gruesa o calor de combustión de dicho alimento. (Scott, M., et al. 1969), cita que el descubrimiento de la concentración de energía en el alimento es de primordial importancia, ya que es la llave que abrió la puerta al conocimiento científico de la verdadera relación entre los nutrientes de la ración. Muchos compuestos orgánicos, incluidas las proteínas, pueden servir como fuentes de energía, pero las principales son los hidratos de Carbono y grasas que llegan a ser digeridos por los animales.

Ración diaria para un caballo de silla con un peso de 600 kg (15) * (DLG)				
Pienso	Cantidad kg	Materia seca kg	Proteína digerible g	Energía MJDE
Heno	5	4,3	270	40
Paja de trigo	1,5	1,3	14	7,1
Avena	3	2,7	255	34,6
Cebada	1,5	1,3	131	19,3
Zanahorias	2	0,2	18	3,3
Total		9,8	688	104
Observación: Mega Joule Digestible Energy (energía de fácil digestión)				

Figura 56. Energía de algunos alimentos que sirven para el consumo en caballos

Para la (N.R.C. 2012), la energía bruta es la energía liberada cuando una sustancia se quema en una bomba calorimétrica. La concentración de energía gruesa de un ingrediente del alimento depende de las proporciones de carbohidratos, grasas y proteínas presentes en el ingrediente. En la bomba calorimétrica puede utilizarse para determinar la energía bruta de los alimentos completos o de sus componentes, así como de los tejidos animales y los productos de excreción. (McDonald, P., et al., 1995). La energía gruesa de las dietas puede ser determinada directamente por la bomba calorimétrica o puede calcularse basándose en la composición química y los valores tabulados para la energía bruta de las fracciones químicas.

El método usual para la bomba calorimétrica es medida bajo una presión de gas oxígeno hecho a 25° C. y una presión estándar para de esta manera medir la producción de calor y por lo tanto el contenido de energía en kcal o kjoule de los compuestos orgánicos que se necesitan conocer. Otro de los enfoques que permiten calcular la energía bruta está basado en la cantidad y composición de los nutrientes de la dieta, este parámetro se consigue multiplicando cada nutriente orgánico por el valor de su entalpia y posteriormente sumando todos estos valores. (Moughan, P., et al., 2000).

(Sánchez, M. 2004), comenta históricamente que Max Rubner (1854 - 1932) y su escuela, introdujeron el concepto energético o calórico en la ciencia de la nutrición, casi 100 años después de Lavoisier. Mediante el empleo del calorímetro se logra determinar el valor calórico de las principales sustancias nutritivas, como: proteínas 5.3, hidratos de carbono 4.1 y grasas 9.3 calorías por gramo. En base a estas cifras, ya era cuestión de simple matemática establecer el valor calórico de los diferentes alimentos. Al respecto la (N.R.C. 2012), indica que el agua y los minerales no aportan energía, pero los carbohidratos proporcionan de 3,7 (glucosa) a 4,2 (almidón) kcal/g, las proteínas 5,6 kcal/g y las grasas 9,4 kcal/g. Si se conoce la composición de un alimento, se puede predecir el con bastante precisión. Ewan (1989) informó la siguiente relación para predecir E.B. (kcal/kg) a partir del extracto etéreo (EE), la proteína cruda (CP) y las cenizas.

$$\text{E.B. (kcal/kg)} = 4,143 + (56,2 * \%EE) + (15 * \% CP) - (44 * \% \text{Cenizas}), R^2 = 0,98$$

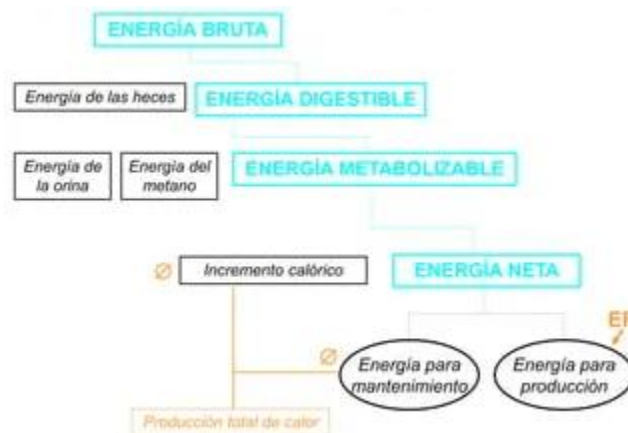


Figura 57. Esquema convencional de partición de la energía del alimento en rumiantes.

Esta ecuación es una de algunas existentes a nivel mundial. Por otro lado (Cozzolino, D., 2002), refuerza este enunciado de la N.R.C., 2012 e indica que la determinación de energía se realiza directamente a través de una bomba calorimétrica o indirectamente a través de ecuaciones de predicción basadas en otros parámetros, como pueden ser la fibra ácida, la grasa, o de estimaciones sobre la base de la digestibilidad del alimento.

(Ku, J., 1994). La eficiencia de utilización de la E bruta, en los animales está determinada por complejas interacciones entre estas están: las características físicas y químicas del alimento, los procesos digestivos en el tracto gastro intestinal y las diversas actividades metabólicas asociadas con el mantenimiento y la producción. Además, diversas proporciones de la E.B., se pierden en los procesos de prehensión, absorción, transporte y metabolismo de los nutrientes. Por su parte (Van der Honing, Y., & Steg, A, 1990), reafirma que la utilización de alimentos desde un punto de vista energético se acompaña de cuatro tipos de pérdidas: en heces, en orina, pérdidas gaseosas (principalmente como metano) y calor.

La magnitud de los cuatro tipos de pérdidas depende, al menos en parte, del tipo de alimento. En general, la mayor variación se encuentra en las pérdidas fecales y de calor. Una gran parte de las pérdidas de calor depende en cierta medida del pienso, pero se debe principalmente a la utilización ineficaz de los nutrientes absorbidos. Además, la energía necesaria para el mantenimiento se mide totalmente como calor. (Scott, M., et al. 1969)

De ahí que solo las porciones metabolizables de un pienso compuesto pueden proporcionar energía y otros nutrientes esenciales. Los animales comen principalmente para satisfacer su hambre de energía. Cuando esta hambre queda satisfecha el animal deja de comer, cuando a la E.B., se le resta la energía contenida en las heces del animal, al resultado se le denomina energía digestible (E.D.) (Ku, J., 1994), (N.R.C. 2012) y normalmente la energía bruta de las heces no se dividen entre la energía endógena y la de origen del alimento; por consiguiente, la mayoría de los valores publicados de la E.D., son valores aparentes. Que esta energía (digestible), según (Cáceres, O., & González, E., 2015), se debe determinar a partir de las pruebas de digestibilidad de los diferentes nutrimentos y que es determinada a partir de lo ingerido y lo excretado en heces por el animal y puede ser calculada como sigue.

$$\% \text{ Digestibilidad} = \frac{\text{Ingerido} - \text{Excretado}}{\text{Ingerido}} \times 100$$

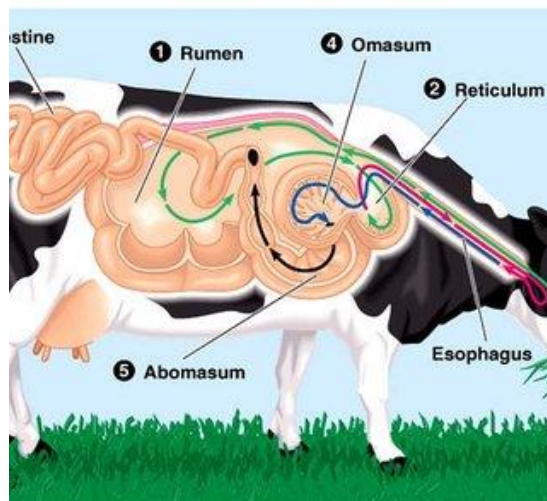


Figura 58. Digestibilidad en bovinos.

Que la cantidad de forraje voluntariamente ingerida por el animal se determina sobre la base del alimento ofrecido y el residuo, para lo cual hay que pesar lo más exactamente posible el forraje que se pone a disposición de los animales diariamente y el residuo que queda de este; se calcula de la forma siguiente.

$$\text{Forraje ingerido} = \text{Forraje ofrecido} - \text{Forraje rechazado}$$



Figura 59. Forraje ingerido en bovinos.

(Gaggioti, M., 2008), comenta que la caracterización de la disponibilidad de energía de los alimentos requiere de un sistema de análisis que permita la determinación de la digestibilidad de los alimentos utilizados en producción animal mediante pruebas de laboratorio o

evaluando el aprovechamiento de las distintas fracciones en pruebas “*in vivo*”, (Adeola, O., 2001) o por usar ecuaciones que predicen la ED a partir de la composición química del alimento.

Para (Martinez, R., 2016), las heces son la pérdida de energía más importante y variable, constituida principalmente por la energía eliminada en el alimento sin digerir, pudiendo variar entre 20 y 80% del total ingerido. Una vez descontada de la EB ingerida la energía eliminada en las heces se obtiene la Energía digestible (ED), el cociente entre ED y EB expresado como porcentaje corresponde a la digestibilidad de la energía

Además, (Van der Honing, Y & Steg, A., 1990), hace referencia que el conocimiento de la aparente digestibilidad de los componentes orgánicos en los alimentos es de gran importancia y el primer parámetro esencial en los sistemas actuales de evaluación energética y para (Posada, S., et al. 2012), alude que la información sobre el potencial energético de los alimentos es fundamental para su valoración nutricional y económica. Al respecto (Bravo, J. 2006), narra que la estimación del contenido energético de los alimentos es más reciente, pero se ha transformado en un análisis fundamental para poder reflejar mejor el valor nutricional de los recursos alimenticios.

$$\text{ED kcal/kg MS} = \text{E. BRUTA} - \text{E. FECAL}$$

A continuación, se puede determinar o predecir la energía metabolizable, que depende de la especie animal y para (Jara, M., 2018), se define como la cantidad de la energía digestible que es utilizada por los tejidos descontando las pérdidas de energía en la orina, así como en el metano y otros gases, producidos a consecuencia de la fermentación de los alimentos en el aparato digestivo. En donde la (N.R.C., 1994), informa que en las aves los productos gaseosos suelen ser insignificantes, por lo que EM aparente representa la energía bruta del alimento menos la energía bruta de la excreta.

Generalmente se realiza una corrección del nitrógeno retenido en el cuerpo aplicado para producir un valor de EM (EMn) corregido con nitrógeno. (N.R.C., 2012), dice que en cerdos

la ED menos la EB contenida en la orina y productos gaseosos de la digestión (principalmente metano) es igual a la EM. Estos valores pueden cambiar por ejemplo la EM representa una proporción significativa de la ED entre el 92 al 98%, con un promedio del 96%. (Ramonet, Y., 1999) Los gases pueden variar y son típicamente bajos para cerdos en crecimiento y finalización alimentados con dietas convencionales (0.5% de la ED), pero puede ser tan alta como el 3% de la ED en cerdas.

(Martinez, R., 2016), asume que estas pérdidas (orina y gases), suelen asumirse como constantes y equivalentes a un 18 % de la ED, para rumiantes, en donde la energía remanente se denomina Energía Metabolizable. Por su parte (Theodorou, M. & France, J. 2007), cita que la energía metabolizable es la unidad de energía actualmente aceptada, representando una aproximación de la cantidad total de energía disponible para el metabolismo. Finalmente (Aguilera, F., 2001) añade que la energía del alimento se puede estimar en forma de energía metabolizable (EM/MS) a partir de la fracción digestible de la materia seca o materia orgánica de la dieta

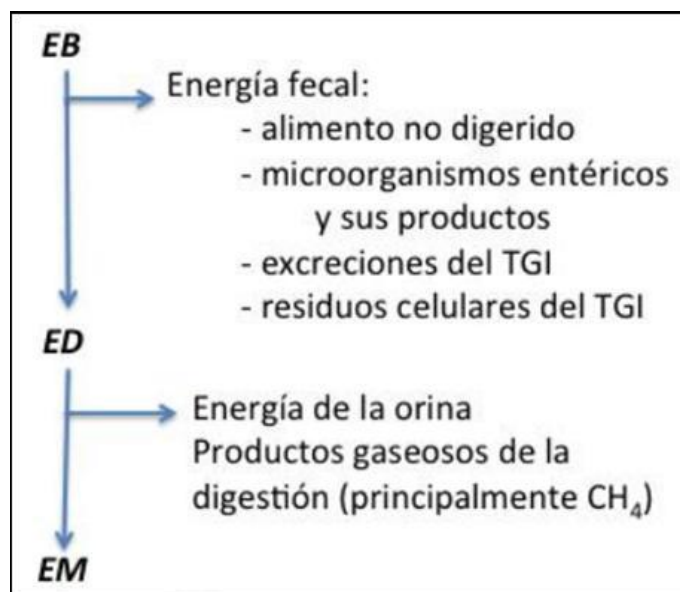


Figura 50. Pérdidas de energía de los alimentos a lo largo de su utilización por parte de los animales.

Fuente: (Martinez, R., 2016)

Por último, la energía neta (EN) para (Jara, M., 2018) puede definirse como la energía contenida en el alimento que realmente es utilizada por el animal. Equivalente a la EM menos

el incremento térmico o extracalor, asociado a los procesos de digestión, transporte y metabolización de los nutrientes. Para la (N.R.C., 1994), la energía neta (EN) puede incluir la energía usada solamente para mantenimiento (ENm), o para mantenimiento y producción (ENm+p).

Porque la EN es usada en diferentes niveles de eficiencia para mantenimiento o de varias funciones productivas, no hay valores absolutos de EN para cada alimento en aves, esta medida es rara vez usada. (Rijnen, M., 2003), refiere que corroborando lo antes citado, indica que parte de los procesos de mantenimiento se usa en la respiración, flujo de sangre, tono muscular, balance de iones, recambio de tejidos, regulación de la temperatura del cuerpo, ingestión de alimento y actividad física (N.R.C., 2012).

Asume generalmente que la energía neta, es la base ideal para expresar la energía necesitada para cerdos. Los valores y sistema de la EN han sido basados en el faenamiento comparativo o por calorimetría indirecta. (Moughan, P., et. al. 2000) citan que la medición de la energía neta implica determinar la energía que se retiene en el cuerpo o en otros productos. Es así como el aumento del contenido de energía (entalpía) en el cuerpo, está relacionado con la energía metabolizable o energía digestible consumida.

Esto significa que siempre hay una diferencia entre energía metabolizable y producción de calor o aumento del poder calorífico del cuerpo de un animal (crecimiento, proteína, lípidos) y/o producción (leche, fetos, etc.). Para (Martínez, R., 2016), el trabajo de digestión, fermentación, transporte y metabolización de los nutrientes digeridos genera una mayor actividad metabólica que se traduce en una Pérdida de calor derivada del aprovechamiento del alimento y que por tanto no queda retenida en los productos de síntesis (por ejemplo, carne, leche, huevos, trabajo). Estas pérdidas de energía se llaman Incremento Calórico y la energía resultante luego de descontarla de la EM se conoce como Energía Neta.

(Ayanz, A., 2006). Aclara que cada escuela o sistema tiene sus preferencias a la hora de utilizar una u otra forma de energía. Así, el INRA - cuyo sistema es el más ampliamente difundido en España - utiliza la energía neta (EN), mientras que los británicos suelen emplear

la metabolizable (EM), y los norteamericanos, la digestible (ED). Por eso, a la hora de comparar las características de los alimentos con las necesidades de los animales, es imprescindible tener en cuenta la procedencia de los datos y las formas de energía que se manejan. Los investigadores del sistema INRA han propuesto para ganado la utilización de dos valores de energía para cada alimento: las Unidades Forrajeras leche y las Unidades Forrajeras carne, para ganado de leche y carne respectivamente.

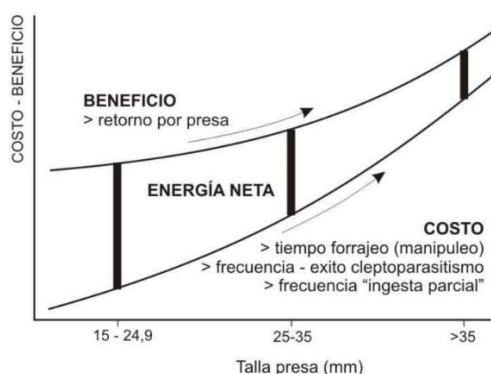


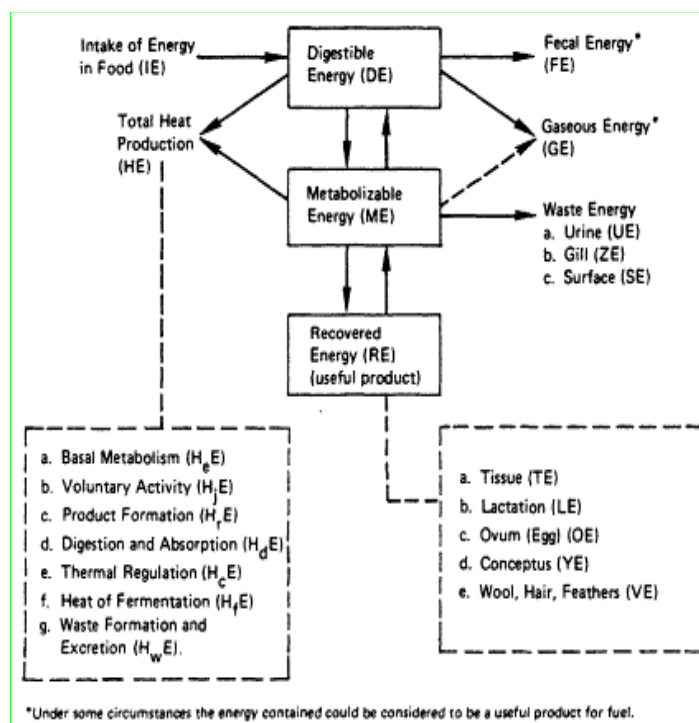
Figura 61. Modelo general para la energía neta.

(Guada, J., 1996), sostiene que el valor energético de la dieta se expresa convencionalmente en términos de energía metabolizable (EM) o energía neta (EN). Estas unidades describen la energía disponible por el animal y son útiles para comparar la adecuación de los aportes con las necesidades. (Noblet, J., 2010) refiere que la concentración energética de los alimentos para ganado porcino está basada inicial y más generalmente en su valor de energía digestible o metabolizable. Sin embargo, la estimación más próxima del valor energético "verdadero" de un alimento es su contenido de energía neta, ya que tiene en cuenta diferencias en el grado de utilización metabólica entre nutrientes.

(De Ayala, P., 1995), señala que en el caso de caballos el contenido de energía de los alimentos se utilizan dos métodos para esta especie. El método francés (INRA, 1984) emplea unidades forrajeras (UFC), mientras especialistas americanos definen en energía digestible. (Doorenbos, J., 2004), dice que el valor energético de las materias primas en los Países Bajos para ganado vacuno lechero está expresado en unidades VEM (unidades alimenticias leche), y para ganado vacuno de carne en VEVI (unidades alimenticias carne), mismos que parten de la energía metabolizable.

El fraccionamiento energético, a partir de la energía bruta contenida en los alimentos que son consumidos por los animales sufren una serie de pérdidas: principalmente en las heces, orina, gases, finalmente llega al organismo del animal como producción total de calor (HE), con todos sus componentes (constituyéndose en la energía de mantenimiento) y energía retenida o recuperada como producto útil (RE), y sus componentes (energía de producción). Además, existen diferentes sistemas de valoración y unidades de medida de energía de los alimentos y para las diferentes especies animales.

Figura 62. El flujo idealizado de energía a través de un animal



Fuente: Reportado Nutritional Energetics of Domestic Animals and Glossary of Energy Terms (N.A.P. 1981)

Dentro de los sistemas, se encuentra el sistema americano de la “National Research Council” (NRC), cuya unidad de medida es la kilocaloría o megacaloría, el europeo “Agricultural Research Council” (ARC) con su unidad el kilojulio o megajoulío, el sistema francés “Institut National de la Recherche Agronomique” (INRA), con sus medidas unidades forrajeras (UF), entre otros; de todos estos sistemas el utilizado en Ecuador, para la alimentación animal es el sistema americano a través de los libros de la NRC, existiendo tablas de valores para todas

las especies domésticas, en la revisión realizada se puede establecer que los alimentos para conejos y caballos se usa la ED en Mcal/kg o Mcal/lb, mientras que en aves la energía metabolizable se expresa en Kcal/kg.

Por otra parte, para cerdos la energía digestible o energía metabolizable en Kcal/kg, aunque en la versión 11th. ya usa la energía neta; para ovinos los Nutrientes Digestibles Totales (NDT), en porcentaje o la ED y EM en Mcal/kg, en ganado de leche, ganado de carne y cabras el NDT, en porcentaje o ED, EM, energía neta para producción de leche (ENI), energía neta para producción de carne (ENg) en Mcal/kg, finalmente para animales de laboratorio incluido el cuy en ED en kcal/kg.

1.8 VALOR DE LA PROTEINA

(Bondi, A., 1988). La palabra proteína procede de la griega *proteicos*, que significa primero o primario. Lo cual, resulta muy adecuado, ya que las proteínas son el componente fundamental de los tejidos animales, siendo necesario un aporte continuado a lo largo de la vida. (Maurelli, J., 2017) Las proteínas forman parte de los tejidos blandos o plásticos de los tejidos animales. Forman los músculos y estructuras complementarias (piel, pelo, pezuñas, etc.) de los mismos y son un ingrediente importante de algunos alimentos. (Church, D. et., al., 2002), son constituyentes orgánicos esenciales de los organismos vivos y son los nutrientes que se hallan en mayor cantidad en el tejido muscular de los animales. Todas las células sintetizan proteínas durante parte o la totalidad de su ciclo de vida, y sin la síntesis de proteínas la vida no podría existir. Todas las células contienen proteínas, y la renovación de estas es muy rápida en algunos tejidos, como las células epiteliales del tejido intestinal.

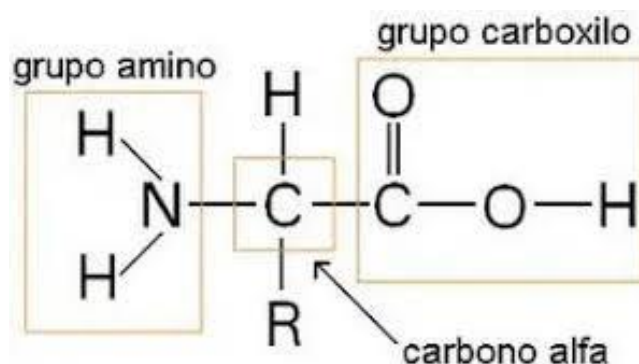


Figura 63. Estructura química de los aminoácidos.

(Scott, M., et al 1969), manifiesta que las proteínas se conocen desde hace más de 100 años como la base alimentaria esencial. A principios del siglo XX algunos investigadores comenzaron a comprender que la necesidad de proteína es, en realidad, una necesidad de aminoácidos.

Para (Church, D. et., al., 2002), todas las proteínas están compuestas de unidades simples, los aminoácidos. Aunque en la naturaleza se encuentran más de 200, únicamente alrededor de 22 aminoácidos se presentan de manera común en la mayoría de las proteínas. (Maiztegui, J., 2009) Las proteínas se componen de una o varias, cadenas de aminoácidos estrechamente ligadas.

Una cadena corta de aminoácidos (menor de 100) se llama un péptido. (Méndez, L., 2020), los aminoácidos están unidos por un enlace característico que recibe el nombre de enlace peptídico. Según manifiesta (Ayanz, A., 2006). las proteínas animales están constituidas por 18-22 aminoácidos, pero no todos ellos pueden ser sintetizados por los animales. (Maurelli, J., 2017), una decena de ellos denominados esenciales, imprescindibles para la síntesis de proteínas. (Ayanz, A., 2006) deben ser suministrados necesariamente con los alimentos.

Aminoácidos esenciales	Aminoácidos no esenciales
Fenilalanina	Acido Aspartico.- Aspartato
Isoleucina	Acido Glutamico.- Glutamato
Lisina	Alanina
Treonina	Asparagina
Triptófano	Cisteina
Valina	Glicina
Arginina	Glutamina
Histidina	Prolina
Leucina	Serina
Metionina	Tirosina

Figura 64. Clasificación de los aminoácidos.

Por ello, en las explotaciones muy intensivas, a la hora de formular piensos o raciones, es muy conveniente conocer no sólo el contenido proteico de los alimentos, sino también su composición en aminoácidos. (Church, D. et., al., 2002); (Wattiaux, M., 2007), a estos aminoácidos se les conoce también como indispensables porque el cuerpo no los puede

sintetizar, y los que no se necesitan en la dieta, ya que su síntesis en los tejidos o en el cuerpo es adecuada, se conocen como no esenciales y son 12. El código genético determina la estructura de cada proteína, que en su turno establece una función específica en el cuerpo.

(Méndez, L., 2020). La secuencia de grupos de aminoácidos es la que caracteriza a una proteína y de la forma como se enlazan para conformar su estructura. En el trabajo de rutina se determina más frecuentemente la proteína total que las proteínas o aminoácidos individuales y puesto que el nitrógeno representa en la mayoría de las sustancias proteicas un porcentaje relativamente constante, alrededor del 16%, su determinación sirve como una medida del contenido proteico en los alimentos. (Maiztegui, J., 2009), el resto de la proteína se llama el esqueleto de carbono. Contiene moléculas de carbono, hidrógeno y oxígeno que pueden rendir energía exactamente como carbohidratos y lípidos.

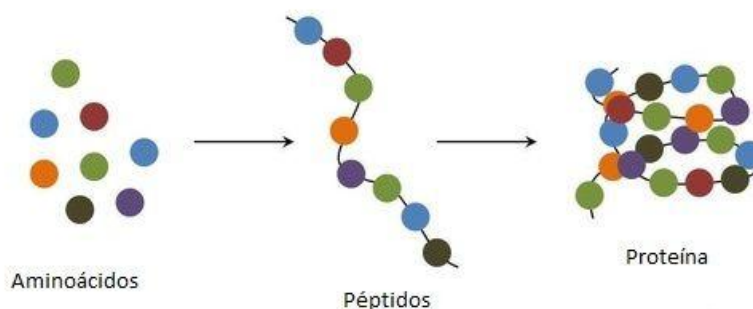


Figura 65. Secuencia de aminoácidos para formar una proteína

(Wattiaux, M., 2007), Así, el porcentaje de proteína en un alimento es típicamente calculado como el porcentaje de nitrógeno multiplicado por 6.25. (Galylean, M., 2010) La pregunta es "¿de dónde viene el factor 6,25 en los cálculos?", simplemente se puede multiplicar por $100/16 = 6,25$ para estimar el contenido de proteínas. Desafortunadamente, no todas las proteínas contienen 16% de nitrógeno, y en los casos en que la divergencia del 16%, si se conoce el valor, se deben utilizar otros factores. Por ejemplo, las proteínas combinadas de la leche contienen aproximadamente un 15,7% de nitrógeno y se debe utilizar un factor de 6,38. (Ayanz, A., 2006), por lo tanto, se calcula el contenido total de proteína (Proteína Bruta) de un alimento a partir de su contenido en N.

ANÁLISIS PROXIMAL

PROTEÍNA CRUDA

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

** Proteínas en promedio contienen 16% N*

$$100 / 16 = 6.25$$

Figura 66. Análisis proximal para determinar proteína bruta

Este procedimiento sería muy preciso si todo el N fuera de origen proteico, pero como no tiene por qué serlo, constituye sólo una aproximación suficientemente aceptable como para trabajar con ella. Por eso, muchos autores prefieren utilizar para dicha variable el término Materias Nitrogenadas Totales (MNT). (Murillo, B., 1994), entonces, dado que el elemento característico de las proteínas es el nitrógeno, los métodos de cuantificación de proteínas se basan esencialmente en la determinación del contenido de nitrógeno. Por lo tanto, según (Maiztegui, J., 2009), En el laboratorio, se mide la cantidad de nitrógeno (Método de Kjeldahl) y no la cantidad de la proteína.

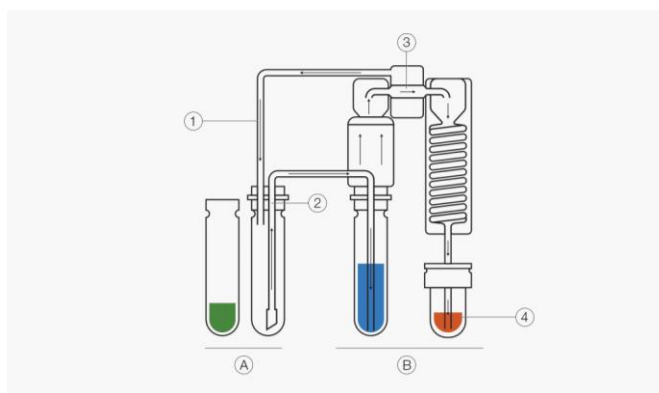


Figura 66. Equipo Kjeldahl para determinar proteínas.

(Maurelli, J., 2017), El mayor porcentaje de la fracción nitrogenada de los alimentos lo forman las proteínas. (Wattiaux, M., 2007), esta medida se llama la proteína cruda. La palabra cruda refiere a que no todo el nitrógeno en el alimento está en forma de proteína. (Gallardo, M., 2006), conocida también como Proteína bruta (PB), esta fracción incluye también las sustancias nitrogenadas no proteicas (NNP) como aminos, amidas, urea, nitratos, péptidos y aminoácidos aislados. *No siempre un alto nivel de PB significa buen nivel*

proteico. Los compuestos NNP, solubles o muy degradables, poseen menor valor nutricional que las proteínas verdaderas.

(Olanite, J., 2011) La proteína suele ser el constituyente que más limita el rendimiento en los animales. (Santini, F., 2014) Las proteínas proveen de los aminoácidos necesarios para el mantenimiento de las funciones esenciales como la reproducción, crecimiento y lactancia. Los monogástricos necesitan consumir los aminoácidos preformados, pero los rumiantes pueden generarlos, por simbiosis con los microorganismos ruminales, de fuentes de NNP, a través de un proceso de síntesis.



Figura 67. Alimentos de origen animal y vegetal que aportan proteína.

Cuando una dieta es baja en nitrógeno, cantidades importantes de urea (que es normalmente excretada en la orina) es reciclada al rumen a través de la saliva o de la pared ruminal, siendo utilizada por los microorganismos ruminales para la síntesis de sus aminoácidos. En los monogástricos la urea es totalmente excretada en la orina. (Wattiaux, M., 2007), y en general el NNP, (por ejemplo, amoníaco, urea, aminos, ácidos nucleicos) no tienen valor nutritivo para los animales de estómago sencillo.

(Bondi, A., 1988). El contenido de proteína en el organismo animal suele ser mayor que en los productos vegetales. (Scott, M., et al 1969), las proteínas vegetales más adecuadas para

ser utilizadas por el animal son aquellas que tienen unas proporciones de aminoácidos más similares a la composición de aminoácidos de las proteínas del tejido animal.

1.9 VALORACIÓN PROTEICA DE LOS ALIMENTOS

(FAO, 2017) Menciona que la evaluación de la calidad de las proteínas permite determinar la capacidad de las fuentes alimentarias de proteína para satisfacer los requerimientos de proteína y nitrógeno amoniacado de los aminoácidos indispensables para los animales. (Bondi, A., 1988), revela que la función primaria de la proteína de la ración es proporcionar una mezcla de los aminoácidos necesarios para la síntesis de proteína tisular. La valoración biológica de las proteínas suele preferirse a los análisis de aminoácidos, ya que los resultados de las pruebas biológicas reflejan la capacidad de las proteínas para convertirse en proteína corporal. La eficiencia biológica de utilización de la proteína de la ración depende, no solo del equilibrio entre los aminoácidos que aporta, sino también de la ingestión de nitrógeno y energía, así como de la especie animal y su estado fisiológico. (Evans, E., & Witty, R., 1979), dice que la calidad de una proteína depende de su perfil de aminoácidos y su disponibilidad de estos en relación con los requerimientos de aminoácidos esenciales y nitrógeno no específico por parte de la especie objetivo. El propósito de medir la calidad de la proteína es esencialmente determinar la utilidad de una proteína para sustentar la vida. y la producción en una determinada especie animal.



Figura 68. Evaluación de la calidad proteica.

La evaluación de la calidad de las proteínas es necesaria para definir uno o más de los siguientes aspectos (1) Medir la eficacia con la que una proteína suministra aminoácidos para

cumplir los requisitos de una función determinada. (2) Determinar los niveles óptimos de una proteína necesarios para una función dada. (3) Comparar proteínas o cambios en las proteínas que ocurren debido al mejoramiento o procesamiento de plantas de balanceados. (4) Predecir cómo funcionará una proteína para suministrar la cantidad requerida de aminoácidos en una dieta completa

Existen diferentes métodos para evaluar la calidad de las proteínas:

(I) Métodos usando animales de laboratorio. Dentro de estos tenemos los:

(A) Métodos de alimentación

- 1.- Valor biológico
- 2.- Relación de eficiencia proteica (PER)
- 3.- Proporción neta de proteínas (NPR)
- 4.- Utilización relativa del Nitrógeno (RNU)
- 5.- Utilización de la Proteína Neta (NPU)
- 6.- Índice de crecimiento de nitrógeno (NGI)
- 7.- Crecimiento del gusano del alimento (*Tenebrio molitor*)

(B) Índices metabólicos

- 1.- Actividad de la Xantina Oxidasa
- 2.- Actividad de la Arginasa Hepática
- 3.- Actividad de la Transaminidasa renal
- 4.- Actividades de aspartato hepático y alanina aminotransferasa.
- 5.- Síntesis de la proteína ribosomal

(II) Métodos usando microorganismos.

- (A) Crecimiento de la *Tetrahymena pyriformis*
- (B) Crecimiento de *Streptococcus fecalis*
- (C) Crecimiento de *Streptococcus zymogenes*
- (D) Crecimiento de *Leuconostoc mesenteroides*

(III) Métodos químicos

(A) Predicción de la calidad de la proteína

- 1.- Análisis de aminoácidos
- 2.- Puntuación química
- 3.- Índice de aminoácidos esenciales

- 4.- Proporción mutua de aminoácidos
- 5.- Digestión *In vitro*
- 6.- Técnicas de absorción de tintes
- 7.- Disponibilidad de aminoácidos

En este documento vamos a realizar referencias solamente del Valor Biológico (BV) y de la Relación de la Eficiencia Proteica (PER). Al respecto para (Scott, M., et. al.,1969), el valor nutritivo de la proteína esta dado en términos de <<Valor Biológico (BV) >>, que es el porcentaje del nitrógeno digerido y absorbido retenido y no excretado por la orina.

Las medidas del valor biológico han representado intentos para determinar biológicamente cómo los aminoácidos de una determinada proteína de un alimento podrán satisfacer las necesidades del animal en crecimiento. Al respecto (Evans, E., & Witty, R., 1978), manifiesta que esta medida se utiliza para relacionar la cantidad de nitrógeno alimentario que retiene un animal de prueba a la cantidad de nitrógeno alimentario que se absorbe. Estimaciones de nitrógeno y las pérdidas de origen endógeno y metabólico se consideran en el cálculo de BV mediante el uso de animales de control a los que se les ofrecieron dietas libres de proteínas.

Normalmente, los animales de prueba y de control reciben las dietas experimentales durante 7 a 10 días. Las ratas se utilizan con mayor frecuencia para la determinación de BV. Por su lado (Bondi, A., 1988) señala que el valor biológico de la proteína alimenticia fue definido por Thomas & Mitchell (1909) como la proporción del nitrógeno absorbido (retenido por el organismo para el mantenimiento y crecimiento) respecto al digerido:

$$VB = \frac{\text{Nitrógeno retenido (g)}}{\text{Nitrógeno ingerido (g)}} * 100$$

El valor biológico se determina en experimentos de balance en los que se determina la ingestión de nitrógeno y la excreción de nitrógeno en heces y orina. Deben administrarse a

los animales dietas adecuadas en el contenido de proteína y energía. Los cálculos se realizan del siguiente modo:

$$VB = \frac{\text{Ingestión de nitrógeno} - (\text{nitrógeno fecal} + \text{nitrógeno urinario})}{\text{Ingestión de nitrógeno} - \text{nitrógeno fecal}} * 100$$

Esta fórmula proporciona valores para las proteínas solo con fines de crecimiento. Las determinaciones más exactas tienen en cuenta el mantenimiento y el crecimiento, al considerar las pérdidas de nitrógeno metabólico y endógeno. El nitrógeno metabólico fecal y el nitrógeno urinario representan fracciones de nitrógeno que han sido utilizadas por el animal, aunque aparezcan en las excretas. Proceden de la proteína corporal, y establece la siguiente formula

$$VB = \frac{N \text{ ingerido} - (N \text{ fecal} - N.F. \text{ metabólico}) - (N \text{ urinario} - N.U. \text{ endógeno})}{N \text{ ingerido} - (N \text{ fecal} - N.F. \text{ metabólico})} * 100$$

Tipo de proteínas	Valor Biológico
Suero de leche	104-120
Huevo entero	100
Clara de huevo	88
Pescados	80-85
Aislado de guisante	80-85
Carnes	78-80
Caseína	77
Soja	74-90
Gluten de trigo	64
Arroz	59
Legumbres	50
Cereales	<50

Figura 69. Valor biológico de materiales protéicos.

(Maynard. L., et. al., 1988), complementa que a la capacidad de una fuente proteica determinada para proveer aminoácidos en las cantidades necesarias para formar los tejidos y compuestos nitrogenados que requieren. las diversas funciones corporales se le llama valor biológico. Para facilitar los cálculos el Nitrógeno fecal metabólico (NFM) para rumiantes

obtuvo un valor que oscilaba de 0.545 a 0.576 g de nitrógeno por 100 g de materia seca ingerida (alrededor de 5 g por kilogramo). Esto es más del doble que el valor para las ratas que representan a los no rumiantes. De esta manera se asigna para el NFM un valor de 1 a 2 g/kg de materia seca ingerida para no rumiantes y 4 a 6 para rumiantes. Por otro lado indica que Brody y colaboradores bosquejaron un método que se basa en los valores de Nitrógeno Urinario Endógeno (NEU) obtenidos por la siguiente fórmula:

$$\text{NEU mg/d} = 146 * \text{kg W}^{0.72}$$

En lo referente al parámetro de la Relación de Eficiencia Proteica (PER), (Bender, A., 1955) narra que el método más simple y conveniente para medir el valor nutritivo de las proteínas es mediante una evaluación del índice de eficiencia proteica (P.E.R.) (aumento de peso en g/g de proteína comido). (Braham, J., et. al., 1967), que este es el método biológico más común para la evaluación de proteínas, en donde a medida que aumenta el nivel de proteína, hay un aumento en el PER. (Evans, E., & Witty, R., 1979) añade que el enfoque del índice de eficiencia proteica (PER) expresa la eficiencia alimenticia en una proteína base. La calidad de la proteína se puede interpretar a través de diferencias en el aumento de peso de animales en crecimiento, eliminando así la necesidad de determinaciones de nitrógeno. Expresado como proporción del valor obtenido para la caseína estándar. (Bondi, A., 1988) explica que normalmente, en este método se usa el crecimiento de ratas o pollos como medida del valor nutritivo de las proteínas. Se define como el aumento de peso por unidad de peso de proteína administrada, y puede calcularse del modo siguiente:

$$\text{PER} = \frac{\text{Aumento de peso (g)}}{\text{Digestión de proteína (g)}} * 100$$

(Bender, A., 1982), finalmente expresa que el índice de eficiencia proteica (PER) se ha utilizado durante demasiado tiempo como la piedra de toque de la evaluación de la calidad de las proteínas y es hora de abandonarla.

1.9.1 REQUERIMIENTOS PROTEICOS DE LOS ANIMALES

(Olanite, J., 2011) El requerimiento de proteínas varía según la especie de animal, la edad y el Funciones fisiológicas del animal (por ejemplo, lactante, joven, preñado, etc.). Church, D. et, al., 2002. El porcentaje de proteínas que se requieren en la alimentación es mayor en el

caso de animales jóvenes en crecimiento y declina de manera gradual hasta la madurez, cuando solo se requiere una cantidad de proteínas suficiente para mantener los tejidos corporales. Las funciones relacionadas con la producción, como la preñez, la lactancia, la producción de huevos, de carne, de lana y la lactancia, aumentan las necesidades de proteínas a causa de la mayor salida de proteínas en los productos antes citados, así como una mayor intensidad metabólica. Para (Bondi, A., 1988), es también esencial proporcionar proteínas en la ración para cubrir las necesidades de renovación en toda clase de animales.

Nutriente	Al inicio y mitad del período seco	Período de impulso (3 semanas antes del parto)
CMS, % de BW	1.9 - 2.1	1.6 - 1.8
PC, % MS	12 - 13	13 - 14
PS, % PC	40 - 50	22 - 28
PD, % PC	65 - 70	62 - 67
EN, Mcal/kg	1.10 - 1.20	1.5 - 1.61
FAD, % MS*	35 - 40	20 - 24
FND, % MS**	50 - 65	37 - 44
Grasa, % MS	3 - 4	3 - 5
Vit. A, UI/kg	4,000	4,700
Vit. D, UI/kg	1,200	1,400
Vit. E, UI/kg	25	30

Figura 70. Requerimientos nutricionales en vacas secas

Según (Maiztegui, J., 2009), se requiere para aquellas sustancias que cumplen funciones importantes como son las enzimas, hormonas y los anticuerpos que tienen proteínas como su estructura central, que controlan y regulan las reacciones químicas dentro del cuerpo. Además, las proteínas son un componente importante de los tejidos musculares. También, las proteínas fibrosas juegan papeles protectivos y estructurales (por ejemplo, pelo y cascos). (González, J., 1994), pese a que desde hace mucho tiempo se conoce que los aminoácidos esenciales (AAE) para los tejidos de los monogástricos son los mismos que para los animales rumiantes, existe, sin embargo, una enorme diferencia en el nivel de conocimiento de las necesidades de estos aminoácidos (AA) entre ambos tipos de especies.

A este respecto, la principal diferencia entre monogástricos y rumiantes es que mientras en los primeros el suministro de AAE está estrechamente relacionado con sus contenidos en la dieta, en los segundos, como consecuencia del importante metabolismo de las materias nitrogenadas en el rumen, este suministro viene determinado por el flujo postruminal de

aminoácidos, suma de las componentes microbiana y alimenticia no degradada, ambas de difícil y compleja determinación.

De esta manera se realiza una consideración tanto de los requerimientos del alimento (términos absolutos) así como del aporte nutricional del alimento (término relativo) para monogástricos bajo el término de proteína ideal, y en rumiantes en proteína metabolizable (PM), conocida también como proteína digerible en el intestino (PDI)

Entonces en lo referente a monogástricos, (Leclercq, B., 2000) cita que la “proteína ideal” es un concepto antiguo propuesto por Mitchell (1924, 1964) para optimizar la utilización de la proteína de la dieta (relación entre retención y consumo de proteína) y minimizar la excreción de nitrógeno. En aquel momento fue un concepto más teórico que práctico.

Para (González, J., 1994), El sistema de la proteína ideal de amplia utilización en monogástricos, en el que se establecen las necesidades en términos de equilibrio de AAE en la dieta asumiendo que el balance de AAE en la proteína producida (carne, leche, huevos o tejido) representa una primera aproximación de las necesidades. (Mercier, Y., et. al., 2013). Si bien los animales no tienen un requerimiento de proteínas, pero si tienen diferentes requerimientos de aminoácidos para diferentes etapas de crecimiento y producción, en donde un requerimiento de aminoácidos se puede definir como la cantidad mínima de un aminoácido que maximiza el uso de otros aminoácidos esenciales para la síntesis de proteínas.

La disponibilidad comercial de aminoácidos esenciales sintéticos ha resultado en una mejor comprensión de la naturaleza del animal, requisitos de aminoácidos esenciales individuales permitió a los nutricionistas determinar con mayor precisión formular raciones, gestionar costosas fuentes de proteínas, reducir el exceso de otros nutrientes esenciales y aminoácidos no esenciales y reducir los niveles de proteína cruda en la dieta. Utilizando datos obtenidos de un amplio estudio de la literatura publicada sobre el aminoácido requerimientos de avicultura, porcina y acuicultura de los últimos 22 años. Estas actualizaciones son importantes ya que el potencial genético de los animales continúa aumentando. y cambian con el tiempo.

Para el caso de rumiantes (González, J., 1994) refiere que la alimentación nitrogenada de los animales rumiantes ha sido objeto de un amplio desarrollo en los últimos veinte años. Así, los avances en el estudio de la digestión en estas especies han conducido a la sustitución del antiguo y obsoleto sistema de racionamiento de la proteína bruta aparentemente digestible por sistemas como el de la Proteína Metabolizable o Proteína Digestible en el Intestino (PDI), dependiendo del país o la región, basados en la estimación de la cantidad de aminoácidos totales (AAT) absorbidos en el intestino e incluso, a la aparición de los primeros sistemas estructurados en términos de aminoácidos esenciales (AAE) específicos.

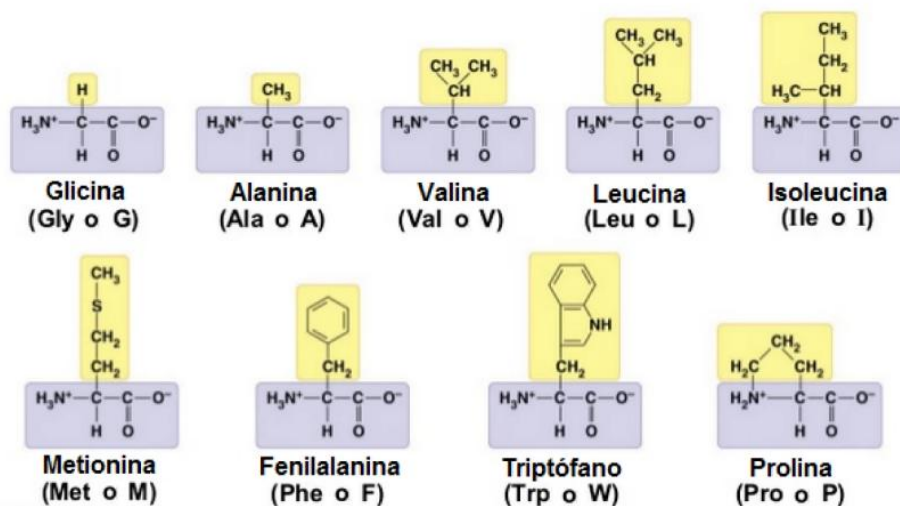


Figura 71. Estructura química de algunos aminoácidos.

Lo manifestado por (Ayanz, A., 2006), indica que, las investigaciones del INRA (Institut National de la Recherche Agronomique, de Francia) han puesto de manifiesto que no todos los rumiantes utilizan de igual modo las materias nitrogenadas, y han creado y utilizan una nueva variable, a la que denominan PDI, en donde desde el punto de vista práctico, los rumiantes presentan la posibilidad de sintetizar proteínas a partir de N no proteico para cubrir una parte de las necesidades nitrogenadas de dichos animales con N de ese tipo, que es más barato, siendo el producto más utilizado para ello es la urea.

Por su parte lo declarado por (Doorenbos, J., et al., 2004) quién menciona que el sistema holandés de valoración de la proteína para rumiantes incluye dos apartados: la estimación del balance de proteína degradable en el rumen (OEB) y de la proteína digestible en el intestino ((Darm Verteerbaar Eiwit) (DVE)) (DVE, siglas en holandés, que significa o es lo mismo

que PDI). La DVE es una medida del valor proteico de la materia prima, mientras que el ((Onbestendig Eiwit Balans) (OEB)) que significa balance de la proteína degradada en el rumen e indica cuánta proteína microbiana se sintetiza en el rumen en base a la disponibilidad de proteína degradable y materia orgánica fermentable. En el caso del ganado vacuno lechero, este último valor tiene que ser positivo, ya que de otra forma el déficit de nitrógeno limitará la síntesis de proteína microbiana.

(Mac Loughlin, R., 2010a), añade que el mantenimiento y crecimiento de los bovinos requiere de Proteína Metabolizable (PM) (proteína verdadera absorbida en el intestino) y energía en los tejidos en proporciones adecuadas según el tamaño y la composición de la ganancia de peso. (Mac, Loughlin, R., 2010b) complementa que en la medida que los animales avanzan en su crecimiento, la participación de la proteína en la composición química de la ganancia de peso disminuye, y el consumo de alimento por kilogramo producido aumenta.

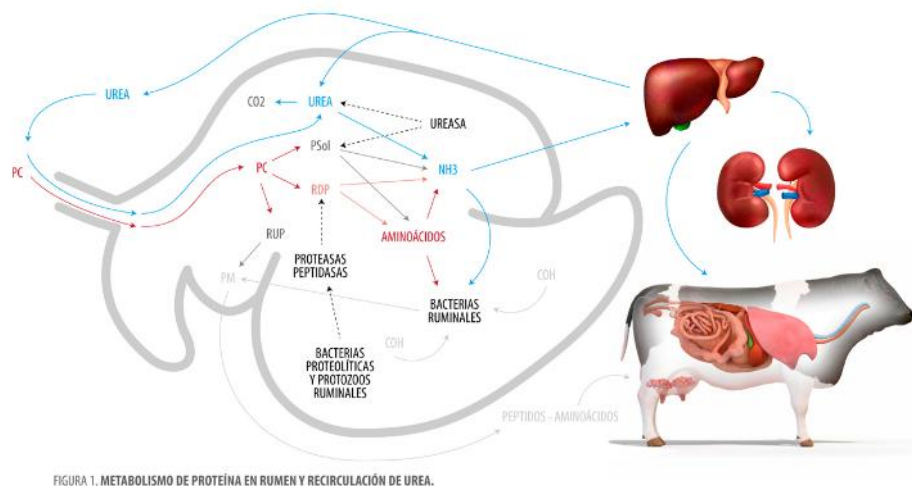


Figura 72. Proteína metabolizable y balance proteico en el rumen

1.9.2 PROTEÍNA IDEAL PARA MONOGÁSTRICOS

(Maynard, L., et. al., 1988). La importancia de la proteína en monogástricos se basa en hacer primero una revisión del proceso de digestión y los factores que la afectan, para interpretar la nutrición proteica. En general, las proteínas del alimento son hidrolizadas en sus constituyentes, los aminoácidos, los que luego son absorbidos y transportados al hígado por la vena porta. Las enzimas secretadas por la mucosa gástrica y por el páncreas son descargadas al lumen del estómago e intestino delgado, respectivamente. Las enzimas de la mucosa intestinal actúan dentro de la misma célula de dicha mucosa. Existen dos tipos de

enzimas: las endoenzimas, como la pepsina, tripsina y quimiotripsina, y las exoenzimas representadas por carboxipeptidasas y peptidasas. Las primeras rompen las grandes moléculas en otras más pequeñas actuando sobre la cadena peptídica, mientras que las últimas actúan sobre los aminoácidos terminales produciendo aminoácidos libres.

Por su lado (Doorenbos, J., et al., 2004), expresa que el valor proteico de las materias primas para no rumiantes se expresa por su contenido en aminoácidos aparentemente digestibles en el íleon. Para cada ingrediente se presenta el perfil de aminoácidos, que se supone constante, aunque el contenido en proteína del alimento varíe con respecto a la media. Cuando éste no es el caso, el alimento se clasifica por calidad. A partir del perfil en aminoácidos y el contenido en proteína se calcula la concentración en aminoácidos brutos del alimento.

La proteína y aminoácidos que alcanzan el ciego y el intestino grueso pueden ser fermentados por la flora intestinal, pero no resultan disponibles para el animal. Por esta razón, la digestibilidad de la proteína y de los aminoácidos se determina a nivel ileal mediante el uso de animales canulados en íleon terminal. (Shimada, 2003) menciona que los factores alimenticios, genéticos, ambientales y sanitarios influyen en las necesidades de aminoácidos, aunque no para todos los animales en todas las circunstancias, por ello se propuso el concepto de proteína ideal en la formulación de alimentos para cerdos y aves, el método consiste en expresar los requerimientos de aminoácidos esenciales como relaciones ideales con la lisina, ya que se sabe que las necesidades de aminoácidos varían de acuerdo con los factores relacionados con la lisina.

Aminoácido	UFV Inicial	UFV Crecimiento	Baker (2003)
Lisina, %	100	100	100
Met. + Cis. %	71	72	72
Treonina, %	65	65	56– 58
Arginina, %	105	105	105
Valina, %	75	77	78
Isoleucina, %	65	67	61
Leucina, %	108	109	109
Triptofano, %	16	17	17
Histidina, %	36	36	35
Fenil + Tir	115	115	105
Gli + Ser Total, % ¹	150	140	105/110 ²

1. Valores en relación a la lisina total de la dieta. 2. valores del NRC (1994)

Figura 73. Proteína ideal para pollos de engorde.

Sin embargo (González, K., 2018) cita que el concepto de proteína ideal en cerdos se desarrolló a partir del conocimiento de obligación de cada aminoácido a las diferentes funciones de los animales por el de ARC(Consejo de Británico de Investigación Agrícola), proponiendo el uso de la proteína ideal desde 1981, que se basa en optimizar el uso de dieta rica en proteínas, el aumento de la relación entre el consumo y la retención, por lo tanto la reducción de la excreción de nitrógeno.(Armas, J., 2015) manifiesta que se conoce como proteína ideal al equilibrio que existe entre los aminoácidos que componen un alimento para obtener el máximo rendimiento de una dieta por lo cual es necesario que las proporciones entre los diferentes aminoácidos se encuentren balanceadas, la lisina es el aminoácido referente para aplicar el concepto de proteína ideal a este aminoácido se le da un valor de 100 y, en base a este valor, se da las relaciones a los demás aminoácidos

(Mercier, Y., et. al., 2013), indican que las recomendaciones de aminoácidos a menudo son expresadas sobre una base proteica ideal y digerible, donde el nivel digerible de un amino esencial, el ácido se expresa como una proporción de lisina digerible en la dieta, el aminoácido de referencia (digerible AA esenciales/lisina digerible). Un perfil proteico ideal debe contener cantidades adecuadas de cada aminoácido esencial para satisfacer los requerimientos de mantenimiento y producción.

Para (Campos, A.,et. al., 2008), la proteína ideal puede ser definida como el balance exacto de los aminoácidos, sin deficiencias ni sobras, para satisfacer las demandas de mantenimiento y ganancia máxima de proteína corporal, esto reduce el uso de aminoácidos como fuente de energía y la excreción de nitrógeno. El aminoácido lisina fue elegido referencia, por ser el primer aminoácido limitante en la mayoría de las dietas, estar disponible en forma sintética, el análisis es simple y la función principal es el aumento de proteína corporal. La lisina es utilizada como referencia (100) por tener las siguientes características:

1. La lisina es el primer aminoácido limitante en la mayoría de las dietas para cerdos y el segundo, después de la metionina + cistina, en dietas para aves.
2. Así como la treonina, es un aminoácido estrictamente esencial no existiendo una vía para la síntesis endógena.
3. Tiene metabolismo orientado principalmente para la deposición de proteína corporal.

4. Su análisis en laboratorio es preciso.
5. La lisina se encuentra comercialmente disponible en forma sintética, para ser utilizada en las raciones prácticas de los animales.
6. Existe una gran cantidad de publicaciones referentes a los requerimientos de lisina en aves y cerdos bajo diferentes condiciones de alimentación y ambientales.

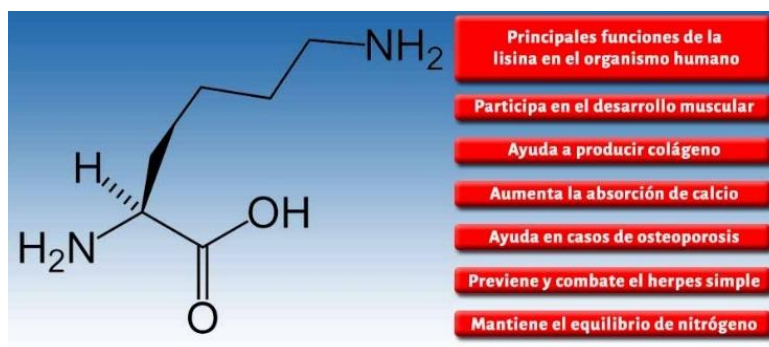


Figura 74. Funciones y estructura química de la Lisina.

(Leclercq, B., 2000) da a conocer que hace más de 30 años científicos ya propusieron aplicar este concepto de proteína ideal al pollo de engorde. Pero es recientemente que ha cobrado de nuevo gran interés en la producción de pollos y cerdos principalmente por tres razones:

1. El precio de la proteína con relación al de la energía está aumentando en Europa y probablemente continuará aumentando en el futuro.
2. La creciente disponibilidad de aminoácidos sintéticos (metionina, lisina, triptófano y treonina) para alimentación animal.
3. Las limitaciones derivadas de la excreción excesiva de nitrógeno al ambiente en varias regiones europeas donde ha estado concentrada la producción de cerdos y pollos.

La “proteína ideal” es una mezcla de proteínas alimenticias donde todos los aminoácidos digestibles, principalmente los aminoácidos esenciales, son limitantes en la misma proporción. Esto significa que ningún aminoácido se suministra en exceso en comparación con el resto. Como consecuencia, la retención de proteína (ganancia respecto a consumo de proteína) es máxima y la excreción de nitrógeno es mínima. (Zambrano. A., 2009). En la actualidad, los conceptos de Proteína ideal, digestibilidad y disponibilidad de aminoácidos, han sido muy difundidos sobre todo en la formulación de alimentos para especies no rumiantes. Sin embargo, la aplicación práctica de estos conceptos es muy limitada por la mayoría de los especialistas en nutrición.

1.9.3 PROTEINA METABOLIZABLE (PM) O PROTEINA DIGESTIBLE EN EL INTESTINO (PDI) PARA RUMIANTES

(De Blas, J., et al., 1981) En Francia, como en todos los países del mundo, se han utilizado hasta hace poco las materias nitrogenadas digestibles (MND) como forma de expresión, tanto del valor nitrogenado de los alimentos como de las necesidades nitrogenadas de los animales. De lo investigado por (Maynard, L., et. al., 1988), indica que, en investigaciones realizadas por cerca de 50 años en Gran Bretaña y Estados Unidos sobre el balance nitrogenado en becerros y corderos con resultados contradictorios, se debía cambiar a un nuevo sistema sobre la nutrición proteica en rumiantes, considerando que, según (Santini, F., 2014), el nitrógeno (N) en el alimento (ración) de los rumiantes proviene principalmente de los aminoácidos que constituyen las proteínas y de fuentes de N no proteico (NNP).

Los componentes nitrogenados no proteicos no pueden ser utilizado por los monogástricos, pero si pueden ser utilizados por las bacterias ruminales para la síntesis de proteína. La proporción mayor de aminoácidos disponible para el rumiante se origina en la proteína bacteriana sintetizada en el rumen. Según (Mac Loughlin, R., 2010b), en los últimos años la comunidad científica ha revisado las bases y metodologías para la determinación de los requerimientos de proteína en el rumiante, incluyendo en las mismas no solo las necesidades del animal sino también las de los microorganismos ruminales para su mantenimiento y crecimiento.

Este nuevo sistema está basado en la Proteína Metabolizable (PM) y significa un avance de importancia para la producción. (Elizondo, J., 2020b) Utilizar el sistema de PM para balancear dietas en rumiantes, representa un cambio significativo con referencia al sistema de proteína cruda. Considerando que más que formular para obtener una concentración de proteína cruda en la ración, es dar énfasis en llenar los requerimientos de N de los microorganismos del rumen y los requerimientos de PM de la vaca, además de disminuir la excreción de N al ambiente. (Mac Loughlin, R., 2010b), afirma que el origen de la PM es la Proteína Microbiana (Pmo), resultado del crecimiento de los microorganismos ruminales *a partir de la energía*, la PDR del alimento, y la PND que es la que pasa sin modificaciones por el rumen. Ambas, Pmo y PND una vez en el intestino delgado son degradadas por las

enzimas a estructuras de menor complejidad (aminoácidos, péptidos) y absorbidas conformando la PM, que es la que utiliza el rumiante.

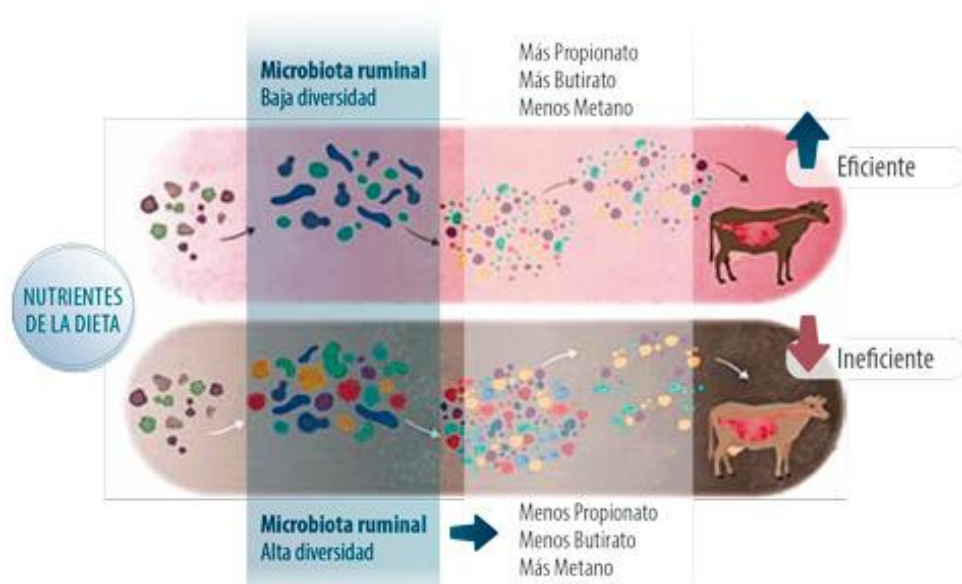


Figura 75. Microbiota ruminal en bovinos

En novillos pesados con altas ganancias, aproximadamente del 80 – 90 % de PM pueden ser cubiertas por la Pmo. De acuerdo con (Ruiz, M., & Ruiz, A., 1990), desde el punto de vista de nutrición de los rumiantes, los compuestos nitrogenados pueden dividirse en fracciones cuyo comportamiento se asocia a determinados procesos ruminales o postruminales, que determinan su utilización. Se distinguen tres fracciones: Fracción I o A, que es soluble y rápidamente degradable en el rumen, compuesta por Proteína Verdadera (PV) y Nitrógeno No Proteico (NNP) (nitratos, aminoácidos, ácidos nucleicos, aminas); Fracción II o B constituida por PV y NNP insolubles pero que son parcialmente degradables en el rumen y disponibles al animal; Fracción III o C, no disponible para el animal. (Stritzler, N., & Rabotnikof, C., 2019).

A la fracción II o B, se le conoce también como proteína by pass y es aquella proteína del alimento que los rumiantes no utilizan a nivel ruminal, para formar estructuras microbianas, sino que va a comenzar a ser hidrolizada recién a nivel abomasal para terminar de degradarse y absorberse en el intestino delgado. De esta manera, la utilización de esta proteína es similar a la que realizan los no rumiantes de las proteínas que consumen. (Maynard, L., et. al., 1988), ha establecido que la clave del metabolismo del nitrógeno en los rumiantes es la capacidad

de la población microbiana para utilizar a partir de compuestos simples como amidas, sales de amonio y aun nitratos, así como la proteína misma y, *en presencia de cantidades adecuadas de energía*, sintetizar los aminoácidos apropiados que se requieren para cubrir sus propios requerimientos de proteína.

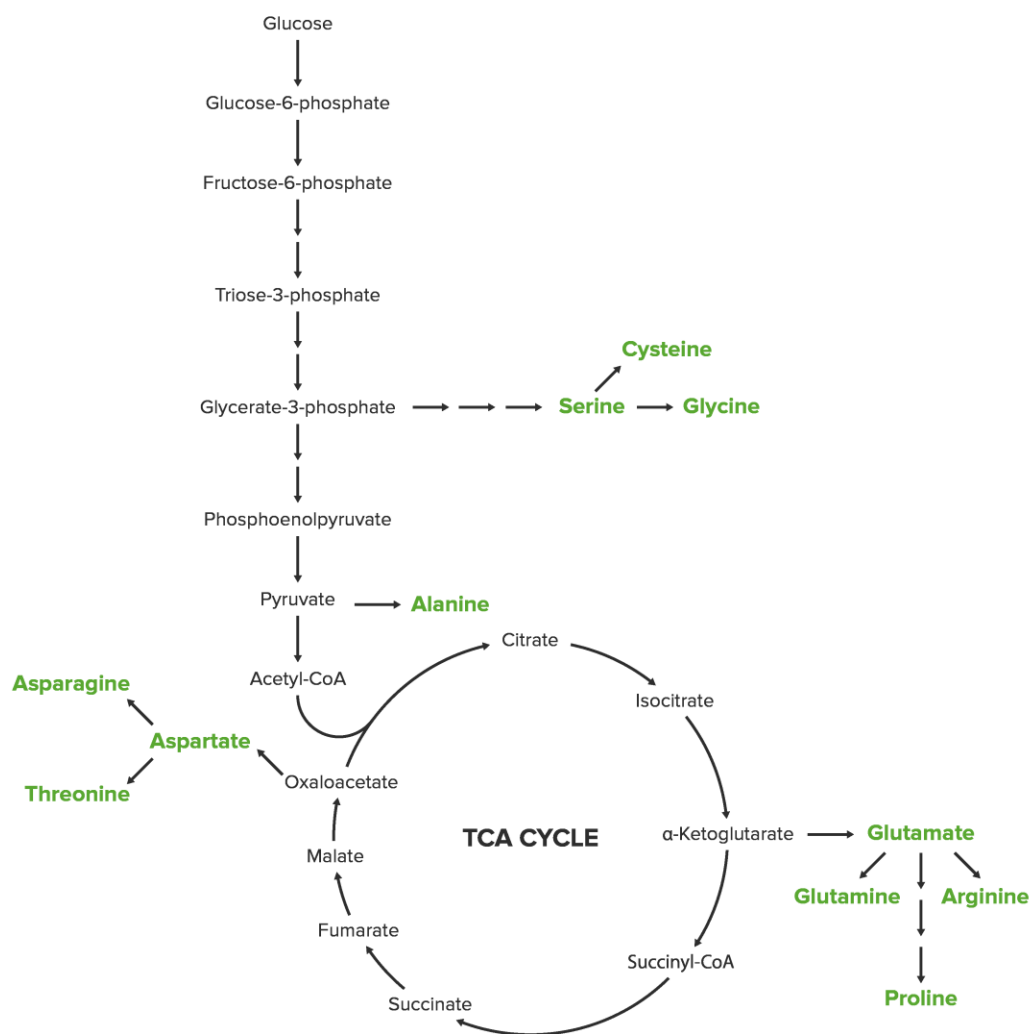


Figura 76. Síntesis de los aminoácidos.

(Elizondo, J., 2020b); (Mac Loughlin, R., 2007), define a la PM como la proteína verdadera que es digerida post ruminalmente, y es absorbida como aminoácidos en el intestino provista por la Proteína Microbiana (Pmo), por la proteína endógena y la Proteína No Degradable en Rumen (PND), conocida también como la proteína de la dieta que escapa la degradación en el rumen (proteína de sobrepaso). Hay básicamente dos razones para usar el sistema de PM.

La primera es que se dispone de más información que en el año 1984 acerca de los dos componentes del sistema (Pmo y PND).

La segunda razón es que el sistema basado en Proteína Bruta erróneamente asume que todos los alimentos tienen similar grado de degradación ruminal, y que todas las dietas tienen igual eficiencia de conversión de PB a PM. (Rinehart, L., 2008), sostiene que el ganado requiere dos tipos de proteína en su dieta. Un tipo es degradado en el rumen y es usado para cumplir con los requerimientos de la población microbiana, y el otro se salta el rumen y es usado principalmente para cumplir con los requerimientos nutritivos del animal. Los rumiantes necesitan aproximadamente de un 65 a 68 por ciento de proteína degradable en el rumen, para una adecuada función ruminal y para el desarrollo de proteína microbiana

La mayoría de la proteína degradada en el rumen es absorbida como amonio y excretada fuera del cuerpo como orina, y por lo tanto es un gasto de proteína. Esta es la razón de porqué la proteína “bypass” o no degradable en el rumen es importante, especialmente para ganado de alta producción como animales de leche, incluso en dietas en base a pasturas ricas en proteína. La proteína “bypass” es importante porque un gran porcentaje de la proteína degradada en el rumen se absorbe como amonio, y si se encuentra en altas concentraciones, puede perderse a través de la orina como urea.

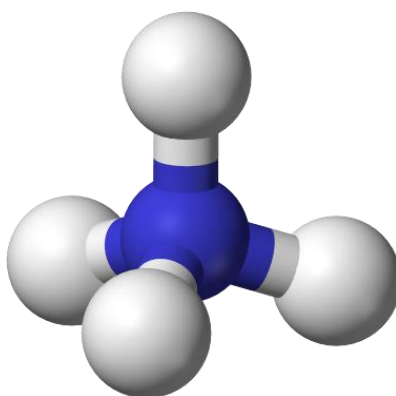


Figura 77. Estructura del amonio

(Elizondo, J.,2020b) cita que las necesidades de proteína para mantenimiento (PMm) de animales en edad adulta se calculan factorialmente como la suma de los requerimientos para

cubrir los gastos por la proteína que se pierde como N endógeno urinario, N dérmico, N metabólico fecal y N endógeno. (Ojeda, A., 2010), complementa que la necesidad de proteína también es necesaria para la lactación, para la gestación. (Olanite, J., 2011), da a conocer que generalmente, el requerimiento mínimo de proteínas de los rumiantes está entre 7 y 8 % pero los animales de alta producción requieren niveles cercanos al 13% al 14% y donde los niveles de proteína son inferiores al requerimiento mínimo, proteína necesita ser complementado. (Fox, D., et. al., 2004), señala que la proporción del consumo de proteína y su composición necesaria para funciones productivas, no puede predecirse con precisión hasta que las necesidades de mantenimiento no se conozcan.

(Martinez, R., 2002). El grado en el que se degrada una proteína depende de muchos factores por ejemplo su solubilidad. Esta degradación está en función del tiempo, lo que se ha evidenciado a través de técnicas *in vitro*, e *in situ*.



Figura 78. Método in vitro

La proteína que entra en el retículo-rumen tiene la posibilidad de ser degradada por bacterias y protozoos, y esta actividad básicamente involucra dos pasos: hidrólisis de la cadena peptídica (proteólisis) para producir péptidos y aminoácidos y la desaminación de los aminoácidos. Después de la proteólisis, los péptidos y aminoácidos pueden ser utilizados para el crecimiento microbiano, o pueden ser degradados en amoníaco y aminoácidos libres. Los aminoácidos son rápidamente degradados en el rumen, por lo que pocos aminoácidos están disponibles para la absorción o pasaje del retículo-rumen. (Orskov, E., & McDonald, I., 1978). La importancia de la extensa degradación de la proteína en el rumen ha sido completamente reconocida y ha sido estudiada por Orskov (1970; 1974; 1977) y Miller (1973), entre otros.

De lo reportado por (Jara, M., 2018), indica que las proteínas pueden clasificarse en proteínas solubles e insolubles dependiendo de su solubilidad en soluciones tampón alcalinas y de una concentración iónica baja. Ello da una idea sobre su comportamiento físico en el rumen. Las proteínas solubles, para la alimentación de rumiantes, son aquellas que se disuelven en el líquido ruminal y, por lo tanto, están disponibles para la acción de los microorganismos.

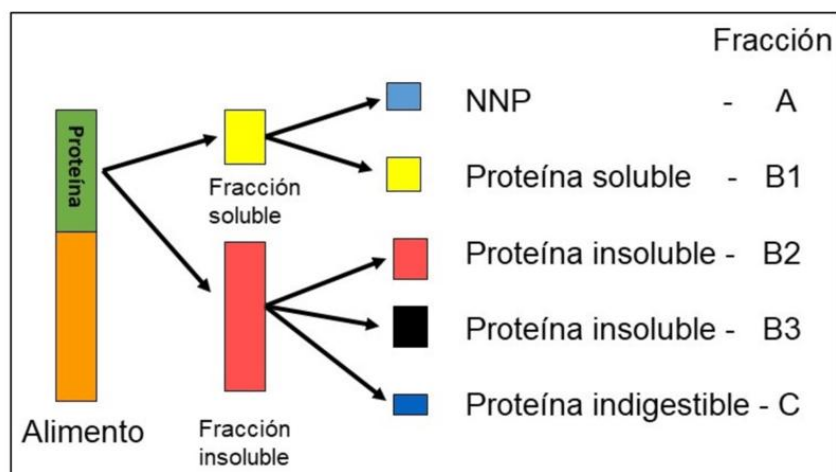


Figura 79. Esquema para mostrar el fraccionamiento de la proteína.

(Stritzler, N., & Rabotnikof, C., 2019). Una de las características más importantes de los rumiantes sea que, en términos generales y para niveles normales de producción, se hacen independientes de la esencialidad de los aminoácidos. Esto se debe a la presencia del microbiota en los preestómagos. Así, los microbios ruminales sintetizan proteínas que contienen todos los aminoácidos en buena proporción, en relación con las necesidades del animal, y son, por lo tanto, los responsables de la no esencialidad de los aminoácidos en los animales rumiantes.



Figura 80. Microbios ruminales

Finalmente (Olanite, J., 2011), da a conocer que el requerimiento de proteínas varía según la especie de animal, la edad y el Funciones fisiológicas del animal (por ejemplo, lactante, joven, gestante, etc.) y que generalmente, el requerimiento mínimo de proteínas de la ración en términos de proteína bruta (el viejo sistema) en rumiantes está entre 7 y 8 % pero los animales de alta producción requieren niveles cercanos al 13% al 14% y cuando los niveles de proteína son inferiores al requerimiento mínimo, el nivel de proteína necesita ser complementado según los requerimientos del animal.

(De Dios, G., 2012), nos complementa al reportar que un contenido bajo en proteínas en los alimentos resulta en una disminución del consumo de estos. El Consumo de la proteína por debajo del cual limita está establecido en 7% (base seca) en rumiantes. Por debajo se puede indicar que es un nivel crítico y está considerado como el mínimo para garantizar un balance de nitrógeno positivo.

(Pirela, J., 2005), manifiesta que este nivel crítico de la proteína se presenta especialmente en forrajes tropicales, siendo este valor superado fácilmente bajo condiciones adecuadas de humedad y manejo apropiado (fertilización, estado de madurez, presión de pastoreo, etc.) del pasto utilizado

1.9.4 PROTEÍNA DE LOS ALIMENTOS

Como ya se mencionó anteriormente y lo manifestado por (Mieres, J. 2004), la proteína cruda o bruta de los alimentos para animales se obtiene a partir del contenido de nitrógeno total de un alimento multiplicado por el factor 6,25. El valor de PC incluye la proteína verdadera y otros compuestos nitrogenados no proteicos obtenidos por el método Kjeldahl. (Cozzolino, D., 1994) cita que la determinación de la proteína de un alimento es utilizada para la clasificación de los alimentos en varias categorías (energéticos, proteicos, fibrosos, etc.).

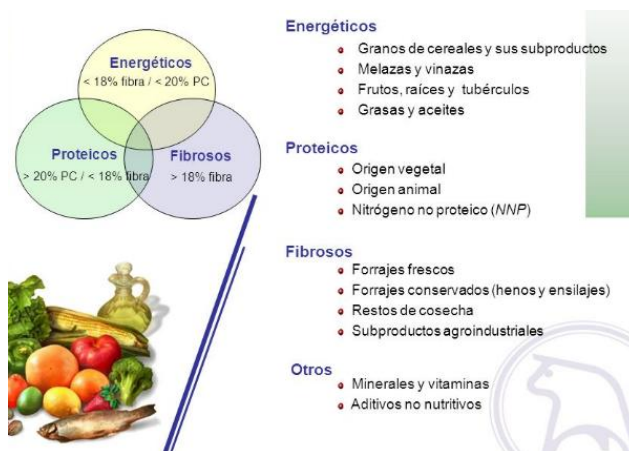


Figura 81. Clasificación de los alimentos.

Es así como se considere un alimento proteico todo aquel que posea un porcentaje de proteína cruda mayor al 18% en base seca. O la anteriormente citado por (Stuart, J., et al., 2003), quién declara que fuentes proteicas son los alimentos que contienen más del 20 % de proteína bruta y menos del 18 % de fibra bruta. Comprenden fuentes de origen animal, vegetal y microbiano. Entre las primeras se incluyen las harinas de carne, sangre y pescado, algunos subproductos de la industria láctea y otros. (Church, D. et al., 2002), en cuanto a la proteína contenida en los alimentos para consumo animal, la concentración es de moderada a alta, dependiendo del contenido de agua en los mismos, por lo que hay que tomar en cuenta la expresión del contenido de los nutrientes si es en base húmeda o libre de humedad (base seca).

Por su lado (Olanite, J., 2011), afirma que el contenido de proteína cruda (PB) puede variar desde tan solo 30 g/kg (es decir, 3%) en forrajes muy maduros hasta más de 300 g/kg (o 30%) en forrajes jóvenes muy pasto fertilizado. En concentrados para la elaboración de alimentos

balanceados existe una mayor variación desde 40 g/kg (es decir, 4%) hasta alrededor de 850 g/kg (o 85%). Que los contenidos de PC varían ampliamente entre las plantas forrajeras, en todas las especies y en todas las temporadas, disminuye a medida que aumenta la edad del forraje. De lo referido por (Maiztegui, J., 2009), se sabe que las proteínas al contener moléculas de carbono, hidrógeno y oxígeno pueden rendir energía como los carbohidratos y lípidos, en un promedio de energía cruda de 5.1 Kcal/g de proteína.

En lo concerniente a monogástricos o no rumiantes (Doorenbos, J., et al., 2004), da a conocer que, hasta el momento, la industria de piensos está acostumbrada a trabajar con valores digestibles, como la digestibilidad ileal aparente, que se calcula a partir de la digestibilidad ileal estandarizada de los ensayos y la composición química media de cada alimento. Hay dos formas de calcular el nivel de aminoácidos digestibles aparentes de cada materia prima. La primera es usar el coeficiente de digestibilidad asignado a cada ingrediente. La segunda es deducirlos a partir de los coeficientes de digestibilidad estandarizada y las pérdidas endógenas basales. De lo manifestado por (Llorente, A., et al., 2005), que la metodología utilizada hasta el momento para la determinación de la digestibilidad ileal real en conejos es muy compleja debido a la necesidad de corregir el efecto de la cecotrofia sobre el flujo ileal (García et al., 2004).

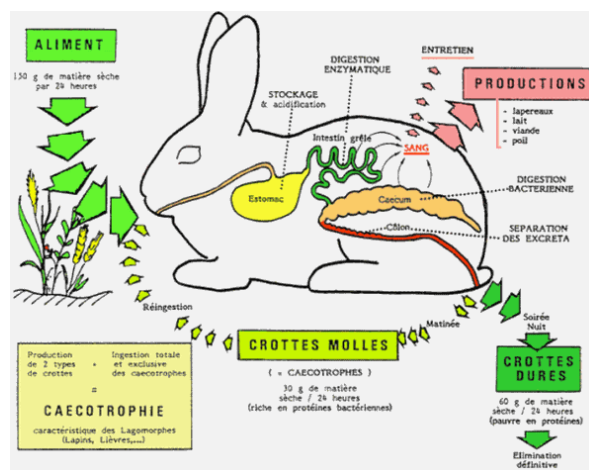


Figura 82. Digestibilidad en conejos.

Por el contrario, para rumiantes, según (Santini, F., 2014), las proteínas de la dieta son degradadas, en parte, en el rumen, generándose por hidrólisis aminoácidos y, por desaminación de estos, amonio y cadenas carbonadas (ramificadas y no ramificadas). El NNP

consumido, más la urea reciclada a través de la saliva y de la pared ruminal, también contribuye al pool de amonio ruminal. (Mac Loughlin, R., 2010b), manifiesta que la Proteína Bruta (PB) del alimento, según su degradabilidad en el rumen se compone de PDR, PND y Proteína de Degradabilidad Intermedia (PDI). Mientras la PDR es utilizada por los microorganismos ruminales para su mantenimiento y crecimiento, y la PND llega sin alteraciones al intestino para ser digerida y absorbida. (Rinehart, L., 2008)

En forrajes, apenas del 20 a 30 por ciento de la proteína ingerida por el animal es proteína “bypass” que escapa del rumen y llega al intestino delgado para ser absorbida. Esta se encuentra en mayor proporción en henos o dietas en base a forrajes maduros, que a partir de dietas de forraje verde. En caso de utilización de concentrados como maíz, semilla de algodón y linaza, granos secos, harina de gluten de maíz, granos secos de destilerías y harina de pescado, son típicamente altas en proteína “bypass”. Por otro lado, más o menos, el 70 por ciento de la proteína es degradada en el rumen por microorganismos, y por lo general, más proteína microbiana es sintetizada cuando una rumiante consume forraje fresco en una pradera de alta calidad. (Pirela, J., 2005, indica que una característica deseable en los forrajes y otros alimentos es la de proveer una fuente adicional de proteína (proteína sobrepasante) para ser digerida y absorbida en el intestino delgado y que complementa de forma satisfactoria el suministro de aminoácidos procedentes de la proteína microbiana.



Figura 83. Aislado de proteína.

De lo reportado por (Doorenbos, J., et al., 2004), sostiene que la cantidad de proteína alimenticia resistente a la degradación microbiana en el rumen se calcula en base a trabajos realizados con la técnica de las bolsas de nylon. En estos ensayos se coloca una pequeña

cantidad de muestra de cada materia prima dentro de una bolsa de nylon que se incubaba en el rumen de vacas canuladas o fistuladas. Con este método se separa la proteína en tres fracciones: soluble, potencialmente degradable e indegradable. La digestibilidad intestinal de la fracción indegradable en el rumen se estima utilizando la técnica de bolsas de nylon móviles. Las bolsas se incuban primero en el rumen y luego se introducen en el intestino delgado para recogerse finalmente en heces donde se determina la composición del residuo no digerido. De lo reportado por (González, H., et al., 2015), indica que la técnica de la bolsa de nylon, también llamada in sacco o in situ ha sido adoptada como un método estándar para determinar el grado y la tasa de degradación ruminal de la materia seca (ms) y de la proteína de los alimentos para rumiantes. Obteniéndose también a intervalos de tiempo la información del rango de fermentación y midiéndose la pérdida de proteína de la bolsa. Esta técnica puede también predecir el consumo voluntario y la digestibilidad de un alimento.

De acuerdo con (Mac Loughlin, R., 2007), el cambio del sistema de proteína bruta (PB) a PM fue adoptado en Nutrient Requirements of Dairy Cattle (NRC, 1989), y Agricultural and Food Research Council (AFRC1992). La PB del alimento puede ser calculada a partir de la suma de Proteína No Degradable (PND) y PDR (Proteína Degradable en Rumen). Dividiendo las necesidades del animal de PM por un valor entre 0,64 y 0,80, y dependiendo de la degradabilidad de la proteína del alimento, se obtiene el requerimiento de PB.

(Juan, N., et, al., 1995), parte de la PB puede estar fuertemente ligada a componentes de la pared celular, lo que la hace no digestible por el animal y menos digestible si en el caso de forrajes conservados y que conservados que ha sufrido un calentamiento excesivo. En estos casos es necesario contar con una estimación del % PB insoluble o indigestible, además del % PB total. (Maiztegui, J., 2009), de la misma manera da a conocer que, algunos forrajes contienen taninos que se asocian con proteínas y aumentan la resistencia de la degradación ruminal.



Figura 84. Forraje con Taninos (Leucaena)

1.10 FUTURO DE LA VALORACIÓN DE LOS ALIMENTOS

(Martinez, S., 2005) La necesidad para precisar las características nutritivas de los alimentos para rumiantes debe aumentar en el futuro debido a: a) los avances en biología molecular, particularmente el desarrollo de plantas transgénicas; b) los programas de mejoras de cosechas; c) las limitaciones ecológicas y económicas relacionadas con el uso y/o vertimiento de los residuos y subproductos de las cosechas. El desarrollo futuro de los sistemas de evaluación debe incorporar nueva información de la relación entre los productos finales de la digestión y la producción de los animales, así como información del metabolismo animal y microbial, la composición de los alimentos y el efecto de los factores de la utilización de alimentos.

De lo analizado por (Theodorou, M. & France, J. 2007), los nuevos sistemas de valoración de alimentos para animales deben basarse en los mecanismos que gobiernan la respuesta de los animales a los nutrientes. A partir de los inconvenientes de los sistemas actuales, los nuevos sistemas mecánicos de evaluación de alimentos deben representar los nutrientes y sustratos individuales en órganos y tejidos. Los nuevos hallazgos de la investigación pueden incorporarse e integrarse fácilmente en modelos construidos mecánicamente. lo que mejorará su capacidad para predecir la disponibilidad de nutrientes y su posterior utilización dentro del tracto digestivo. Con este enfoque, se puede esperar que, en el futuro, los modelos mecanicistas produzcan mejores predicciones del rendimiento animal.

Una de las recomendaciones de (Doorenbos, J. et al. 2004), La estrategia futura del CVB en los Países Bajos, que ha sido discutida recientemente es que los procesos que hasta ahora han

sido centrados debería internacionalizarse. Además, los productos deberían estar cada vez más disponibles a través de Internet, esto conduciría al diseño de sistemas específicos de valoración de alimentos para cada país. (Thomas, P., 2013) menciona que los métodos para predecir el valor nutricional de los alimentos compuestos han ido avanzando progresivamente, surgiendo muchas dudas relacionadas con el valor nutricional de alimentos aún quedan por abordar. De las consecuencias de la variación inter-laboratorios en el análisis químico.



Figura 85. Ensayos biológicos..

(Bailey, S., & Henderson, K., 2013) concuerdan que los laboratorios deben garantizar que los métodos sean estrictamente seguidos en sus procedimientos de control de calidad para que el rendimiento sea eficiente. Las muestras enviadas a los laboratorios deberán tomarse teniendo en cuenta la homogeneidad de la muestra y la representación del lote total, (Van der Honing, Y., & Steg, A., 2013), relacionan el reciente interés en describir con precisión el potencial nutricional de los alimentos, la mejora de los métodos de análisis químicos, físicos (por ejemplo, Near Infrared Reflectant Spectroscopic, Nuclear Magnetic Resonance-NIRS) y de digestión *in vitro* precisa y rápida que sirve para predecir los valores de digestibilidad y valor de la energía útil en principio.

Sin embargo, tales métodos requieren una gran cantidad y una amplia gama de variaciones de muestras de alimento de referencia, que se sean medidos en ensayos de digestibilidad *in vivo* con ovejas o ganado vacuno.

Según lo explicado por (Baker, C., & Barne, R., 2013), recalcan que la aplicación del NIRS en la evaluación de alimentos, no es sólo una herramienta para reemplazar las técnicas de química húmeda, sino que es potencialmente poderosa para rápidamente mostrar estructuras químicas orgánicas, cambios en esas estructuras a lo largo del tiempo y para seguir procesos químicos y biológicos.



Figura 86. NIRS, Tecnología de Innovación en Análisis de Forrajes

En la evaluación química de los alimentos para animales en primer lugar se hace referencia al de los polisacáridos (Aman, P., & Graham, H., 2013), es importante darse cuenta de que los polisacáridos de los alimentos son componentes a menudo asociados entre sí o con otros. componentes, con diferentes propiedades y actividades fisiológicas.

La estructura química de estos polímeros complejos puede afectar tanto la velocidad como el grado de digestión y puede usarse para controlar y optimizar la asimilación de nutrientes en diferentes partes del tracto gastrointestinal. El uso y desarrollo de mejores métodos analíticos y las técnicas animales para la evaluación de polisacáridos en piensos serán, por tanto, un requisito previo para una mayor comprensión del papel de los polisacáridos en los alimentos para animales.

Del análisis químico de la fracción de lípidos (Edmunds, B., 2013), debe tenerse en cuenta la evaluación de las grasas. Se han realizado algunas propuestas para la determinación del

valor no nutricional de la fracción en las grasas alimentarias, con la sugerencia de que el material corregido con glicerol debería ser evaluado como un indicador útil de la calidad de la grasa.

En lo concerniente a la proteína y de la evaluación del valor nutritivo de alimentos compuestos para rumiantes, según (Thomas, P., 2013), también se debe realizar la evaluación de las fuentes de proteínas dietéticas, acerca de la degradabilidad de estas con la bolsa de dacrón o nylon, considerando que esta técnica sigue siendo deficiente.

De la degradación de la proteína en dietas de rumiantes, (Van Straalen, W., & Taminga, S., 2013), se debe estandarizar la medición del escape de proteínas del alimento desde el rumen y su posterior digestión en el intestino. Cuando se mide en condiciones estandarizadas, la degradación de proteínas tanto en los ingredientes del concentrado como en los forrajes es variable. Para medir la digestión intestinal de las proteínas de escape, la técnica de la bolsa de nailon en movimiento es actualmente el método más potente. Según datos limitados, la proteína bypass de los ingredientes concentrados tiene una alta digestibilidad; la de los forrajes es más pequeña y variable.

En la evaluación de alimentos a través de los estudios de calorimetría



Figura 87. Proteína bypass

(Close, W., 2013), indica que se deben desarrollar nuevas técnicas para medir el gasto energético utilizando técnicas de dilución de isótopos y espectroscopia de resonancia magnética nuclear. Sin embargo, tal consistencia no se puede lograr actualmente, por lo que la estimación clásica del gasto energético por calorimetría total sigue siendo el método preferido. Dentro de los sistemas de evaluación de la energía de alimentos para rumiantes

(Van Der Honing, Y., & Steg, A., 2013), realizan una recomendación, que se debe exigir un mejor control de calidad y garantías en la declaración energética que deberán dar los laboratorios de control de calidad y fabricantes de piensos para animales y, en consecuencia, se necesitan métodos para predecir con precisión el valor nutricional. Además, se deberá escoger una unidad común para el valor energético de los alimentos. Por otro lado, da a conocer que los sistemas energéticos actuales son criticados por no predecir suficientemente el rendimiento animal en condiciones variables y, en particular, con raciones que no garantizan una fermentación ruminal óptima. El suministro de nutrientes y los factores implicados deberán cuantificarse mucho mejor en un futuro próximo.

Del rendimiento animal como criterio para la evaluación de alimentos, de lo reportado por (Oldham, J., & Emmans, G., 2013), la interpretación del valor del alimento evaluado para el desempeño del animal sólo puede ser completo si uno también tiene una comprensión cuantitativa correcta de la naturaleza del animal. Por lo tanto, al evaluar los alimentos, inevitablemente nos vemos obligados a combinar conocimientos de biología animal y química de los alimentos. Cada uno de estos por separado es interesante pero no completamente útil para la predicción del desempeño animal. Juntos, pueden conducir a una mejor comprensión nutricional.

Por su lado lo reportado por (Van der Honing, Y., & Steg, A., 2013) los sistemas de evaluación de rumiantes en crecimiento y engorde requiere una mejora sustancial. Los datos sobre la composición corporal y el contenido energético (grasas y proteínas) del aumento de peso vivo son particularmente escasos y la información disponible muestra una gran variabilidad. Se necesitan urgentemente nuevos métodos para cuantificar la composición corporal de animales vivos y medir la composición del aumento de peso vivo durante el crecimiento para mejorar la evaluación energética de los rumiantes en crecimiento.



Figura 88. Evaluación de los alimentos.

De la importancia del consumo en la evaluación de alimentos (Garnsworthy, P., & Cole, D., 2013), se debe tener en cuenta cualquier efecto del nivel de alimentación y lo ideal es que los programas de evaluación incluyan más de un nivel de alimentación. Esto podría ser un problema particular al evaluar los alimentos para vacas lecheras donde la ingesta debe considerarse en términos cualitativos para permitir efectos asociativos. De manera exclusiva para rumiantes en la evaluación y predicción del valor nutritivo de los pastos y forrajes (Thomas, C., & Chamberlain, D., 2013), en términos de predicción del consumo, el pastoreo presenta problemas especiales derivados del complejo sistema de interacciones, de las características del pasto y el comportamiento de pastoreo. Tanto para forrajes frescos como conservados, se necesita mucha más experimentación de las características de digestión con la composición química que deben estar relacionados cuantitativamente de una manera que permita una predicción precisa de su valor nutricional.

CAPÍTULO 2

2 EL MUESTREO

(FAO, 2006). Cuando se realiza el estudio de una población es necesario obtener la información a partir del estudio de una porción de la población denominada muestra y asegurar que las muestras sean representativas de estas (población). Población, es una colección de datos que atañen a las características de un grupo de individuos u objetos. A menudo es imposible o poco práctico observar la totalidad de los individuos, sobre todo si éstos son muchos. En lugar de examinar el grupo entero llamado población o universo, se examina una parte del grupo llamada muestra. Para (Balón, J., & Balón, L., 2019), población, es el conjunto total de personas, objetos o medidas que poseen algunas características

comunes que pueden ser observables en un lugar y en momento determinado. Sin embargo, cuando se realiza una investigación se debe tener en cuenta las características esenciales al seleccionar la población en estudio tales como: homogeneidad, tiempo, espacio, y cantidad.

De acuerdo con (Alperin, M., 2014) mencionan que población: es la colección completa de individuos, plantas, animales, rocas, agua, minerales o cosas que tienen por lo menos una característica común. Que además se debe hacer referencia a la población biológica: es el conjunto de individuos de la misma especie ubicados en espacio y tiempo. Y población estadística: es la colección completa de todo el grupo posible de medidas, valores o cualidades que son motivo del estudio. (Corral, Y., et. al., 2015), nos refiere que, bajo esta premisa, la población o universo, es cualquier colección finita o infinita de sujetos, y que es un conjunto de elementos muy variados y cada unidad poblacional tiene asociada valores de las variables de interés. Ahora bien, como no siempre se puede realizar una investigación que incluya a todos los sujetos que conforman la población; ya sea debido a su tamaño, por motivos económicos o por no ser accesible, se toma como referencia la muestra. Para (Campillo, N., 2011), se denomina muestra a una parte representativa de la materia objeto de análisis, siendo una alícuota de la muestra una porción o fracción de esta. O lo que sostiene la (FAO, 1989), una muestra puede definirse como "una porción o artículo que indica la calidad del todo del que ha sido tomado".

A su vez lo manifestado por el (ARCSA, 2017), que es una porción de un producto o mercancía que sirve para conocer la calidad del género. En términos generales (Balón, J., & Balón, L., 2019), dice que la muestra es un subconjunto claramente representativo de la población y (Corral, Y., et. al., 2015), expresan que una muestra es adecuada cuando el tamaño (cantidad) es adecuado y su calidad (representatividad) refleja a la población e indica que la muestra “debe ser estadísticamente representativa de la población de la que se extrae o se ha tomado” y opinan que entre el requisito fundamental para dar validez a la muestra está que debe ser parte de la población.



Figura 89. El muestreo

(FAO, 2006). Si una muestra es representativa de la población, se pueden deducir importantes conclusiones acerca de la población a partir del análisis de la muestra y que el estudio de la relación que existe entre una muestra de una población y la población de origen se denomina teoría de muestreo. Según (Alperin, M., 2014), muestreo es la técnica de selección de una muestra a partir de una población, operación que consiste en obtener una proporción seleccionada (muestra) de una población en estudio, de tal manera que sea representativa con respecto a las propiedades que deseamos analizar dentro de los límites medibles de error. (FAO, 2015), el muestreo es la selección de una parte representativa de la población de manera de determinar los parámetros o características de toda la población. Una muestra, por lo tanto, es la proporción de la población seleccionada para el estudio o investigación. Una unidad de muestreo es aquella unidad sobre la cual se recolecta la información y suministra la base del análisis. (Castillo, E., et. al., 2017), da a conocer que el muestreo es el factor más importante que afecta la precisión de los análisis. (Jaurena, G., 2009), sostiene que el muestreo consiste en recoger varias submuestras de diversas partes para mezclarlas y así obtener una muestra representativa de todo el material; la cual deberá ser posteriormente reducida para obtener la muestra final que se enviará al laboratorio. En el concepto de representatividad de la muestra está implícito que la muestra proviene de un material homogéneo.

(Apraez, E., 2020), dado que el muestreo constituye una fase crucial para lograr unos resultados confiables en el análisis de un determinado producto, la persona responsable de la toma de muestras debe poseer idoneidad en este campo, ya que lo debe hacer con total apego a los lineamientos técnicos exigidos en los procedimientos. (FAO, 1989); (Balón, J., & Balón, L., 2019) Como los alimentos no son homogéneos, no suele ser posible tomar una

muestra perfecta. Por lo tanto, la (FAO, 2006), manifiesta que un plan de muestreo debe ser presentado como un procedimiento que indica cuantas muestras se debe tomar de un lote, donde tomarlas y cómo manejarlas para asegurar en lo posible su integridad física, química y microbiológica.

(FAO, 1992), hay varios tipos distintos de muestras, cada uno con una finalidad específica. Las muestras de encuesta proporcionan información acerca de las prácticas industriales en relación con un tema en particular. Una encuesta puede llevarse a cabo para determinar si existe un riesgo microbiológico en relación con un alimento o grupo de alimentos en particular. Las muestras para normas alimentarias proporcionan la información en que se basan las normas alimentarias. Las muestras oficiales son aquellas que, en los casos de infracción, sirven de base para acciones concretas ante los tribunales.

El presente examen trata exclusivamente de esta última clase de muestras. Por lo tanto (Grennfield, H., & Southgate, D., 2003), mencionan que la calidad del muestreo y de los datos analíticos es un factor determinante importante de la calidad de la base de datos. Cuando no se dispone de la información necesaria sobre la composición de un alimento o es insuficiente, hay que elaborar protocolos de muestreo y de análisis. (FAO, 1989), sugieren que el tamaño de la muestra debe ser suficiente para permitir su análisis de laboratorio, o su repetición si fuera necesaria.



Figura 60. Análisis de muestras alimenticias

(Araya, H., et. sl., 1994) Cuando se pretende establecer una estrategia para el muestreo de alimentos, es necesario definir los objetivos del mismo y determinar las prioridades analíticas

para alimentos y componentes alimentarios. Los alimentos que se van a muestrear deben ser descritos en términos de: tipo de producto, ingredientes, estado de preservación, fuente, cultivo, y otros factores que podrían influir en los niveles de los componentes en esos alimentos.

2.1 OBJETIVOS DEL MUESTREO

(Greenfield, H., & Southgate, D., 2003) Los usuarios de las bases de datos de composición necesitan valores representativos de la composición de los alimentos que consume la población para la cual se prepara la base de datos. Por consiguiente, los objetivos primordiales del muestreo consisten en recoger muestras de alimentos que sean representativas y garantizar, a continuación, que entre la recogida y el análisis no se produzcan cambios en la composición. Un objetivo secundario puede ser documentar esta variabilidad en relación con factores como las estaciones del año, la geografía, los cultivares y la explotación. Dichas variaciones son previsibles y no deben confundirse con las asociadas con las condiciones analíticas.

Por su lado la (FAO, 1989), sostienen que el objetivo del muestreo es seleccionar una porción o un número de recipientes o de unidades de un producto que sea altamente representativo de una partida o lote de alimentos del que se ha tomado. Un lote puede ser una porción de una partida de alimentos enviados o almacenados que lleve la misma codificación, sea un producto distinto del resto de la partida o sea diferente en cualquier otra forma. Y (Corral, Y., et. al., 2015), dicen, asimismo que es indudable la importancia de la selección de una muestra representativa de la población objeto de estudio, con el propósito de realizar análisis estadísticos.

Alimentos	kcal	Proteínas g	Lípidos g	Glúcidos g	Fibra g	Calcio mg	Hierro mg	Vit. A ug	Vit. C mg	Vit. B ₁₂ ug
CEREALES										
Aroz	362	7	0,9	86	8,2	10	0,5	0	0	0
Bolieria	381	7,3	18,3	50	2,1	40	1	0	0	0
Galletas	436	7	14	74	5	115	2	0	0	0
Harina de trigo ..	348	9,3	1,2	80	3,4	15	1,1	0	0	0
Pan blanco	258	7,8	1	38	2,2	19	1,7	0	0	0
Pasta (fideos) ...	373	12,9	1,5	82	0	22	1,4	0	0	0

Figura 91. Base de datos de la composición de los alimentos.

Para (Amponsah, G., 2009), existe dos tipos de objetivos, el primario y el secundario. Primario que recoge muestras de alimentos representativas y asegura luego de que no se

produzcan cambios en la composición entre la recogida y el análisis. Secundario que documenta la variabilidad natural de las muestras cuando está relacionada con factores como la estación, el lugar geográfico, el cultivar o los sistemas de explotación. En el caso de (Araya, H., et. al., 1997), indican que los objetivos del muestreo para estudios de composición de los alimentos son:

- a) Coleccionar alimentos representativos de aquellos disponibles o consumidos por la población animal.
- b) Entregar información de las variaciones en la composición de los alimentos.
- c) Asegurar que las porciones tomadas para el análisis son representativas de los alimentos colectados.
- d) Prevenir las pérdidas, contaminación o degradación del material en todo tiempo durante la colección, manipulación, almacenamiento o análisis.

Por su parte (Ramirez, M., 2016), sostiene que el muestreo de es una técnica estadística que se utiliza para inspeccionar la calidad y/o inocuidad de un lote, con el propósito de aceptarlo o rechazarlo, teniendo los siguientes objetivos:

1. Evaluar la calidad nutricional y microbiológica de los alimentos
2. Ayudar a evaluar los procesos en la elaboración de los alimentos
3. Proteger al consumidor de productos que puedan causarle daño
4. Identificar los alimentos que puedan presentar un peligro para el consumidor por contener microorganismos patógenos y/o toxinas
5. Ayuda en la toma de decisiones sobre la industria pecuaria por sospecha de malas prácticas de higiene en su procesamiento

Por su lado (Nielsen, D., 2010), refuerza lo anteriormente citado e indica que los dos objetivos principales del muestreo son a menudo para estimar el valor promedio de una característica y determinar si el valor promedio cumple con las especificaciones definidas en el plan de muestreo. Los propósitos del muestreo varían ampliamente entre las diferentes industrias alimentarias; sin embargo, Las categorías más importantes incluyen las siguientes:

1. Etiquetado nutricional
2. Detección de contaminantes y materias extrañas
3. Control estadístico de procesos (Garantía de Calidad)
4. Aceptación de materias primas, ingredientes o productos (muestreo de aceptación)

5. Liberación de lotes de producto terminado.
6. Detección de adulteraciones
7. Seguridad microbiológica
8. Autenticidad de los ingredientes alimentarios, etc.

2.1.1 SELECCIÓN DEL PROCEDIMIENTO DE MUESTREO

Greenfield, H., & Southgate, D., 2003) La selección de una muestra representativa y los protocolos combinados para el muestreo y el análisis deben basarse en un conocimiento claro de la naturaleza de los alimentos y del conjunto del alimento objeto de estudio, es decir, de todas sus unidades individuales. Una base de datos se utiliza durante un período considerable de tiempo y los valores obtenidos de los protocolos combinados se usarán como si fueran representativos, tanto en el espacio como en el tiempo, durante la vida útil de la base de datos y, a menudo, durante mucho más tiempo. Por consiguiente, la formulación de los protocolos representa una tarea enorme, en la que puede ser necesario aceptar compromisos. Es esencial que tales compromisos se basen en el conocimiento del alimento en cuestión.



Figura 92. Selección de muestra representativa.

(Araya, H., et. al., 1994) Cuando un alimento es coleccionado específicamente para generar resultados para una base de datos de composición de alimentos, es de primordial importancia que las muestras sean representativas del alimento, tal como es consumido o está disponible. La muestra representativa es aquella resultante de un plan de muestreo y se espera que refleje adecuadamente las propiedades de interés de la población madre. (Corral, Y., et. al., 2015) la selección del muestreo sirve para clasificar y determinar el tamaño a obtener de una muestra, reducir costos y alcanzar una mayor exactitud, además de ahorrar tiempo y dinero,

se evitan los errores operativos. Este autor presenta el siguiente esquema para configurar la muestra:

1. Definir claramente la unidad de análisis (criterios de inclusión y exclusión) y precisar claramente el tamaño que tiene la población
2. Determinar si se hará un muestreo o, por el contrario, se estudiará toda la población
3. Determinar el tipo adecuado de muestreo
4. Calcular el tamaño muestral
5. Identificar el marco poblacional de donde se extraerá la muestra
6. Extraer o seleccionar físicamente la muestra

Para (Alperin, M., 2014), cita que existen otras consideraciones a tenerse en cuenta para la selección del muestreo:

1. Identificación de la población
2. Muestreo preliminar
3. Estimación del tamaño muestral
4. Selección del procedimiento de muestreo
5. Colección de datos
6. Implementación del plan de muestreo

(EPIDAT, 2016), De la selección de la muestra muchas razones prácticas pueden mencionarse para justificar el uso del muestreo. Sin embargo, lo fundamental es de naturaleza económica; por lo general, resulta literalmente imposible estudiar a todos los individuos que integran una población. El imperativo de hallar recursos metodológicos que fuesen práctica y económicamente viables, pero a la vez científicamente válidos, es de muy larga data. Un paso de medular relevancia en el progreso histórico de consolidación de la teoría del muestreo fue dado con la introducción del azar en el procedimiento de selección muestral. El azar puede intervenir de muchos modos en el proceso, pero se considera que se ha conferido un carácter estadísticamente riguroso al método de selección sólo cuando se cumplen dos condiciones: que el azar opere de manera tal que el procedimiento otorgue a todos y cada uno de los elementos de la población cierta probabilidad conocida de antemano de integrar la muestra, y que tal probabilidad no sea nula para elemento alguno. En tal caso, se dice que se ha seguido un método probabilístico de muestreo.

2.1.2 CLASES DE TOMA DE MUESTRAS

Según (Nariño, E., 2017) ; (FAO, 1989), existen 3 clases o tipos para la toma de muestras:

- Selectiva
- Objetiva
- Mixta (Objetiva – Selectiva)

2.1.2.1 MUESTRAS SELECTIVAS

(Nariño, E., 2017) Se utiliza generalmente toma de muestras selectiva cuando se quiere aumentar la posibilidad de detectar productos defectuosos o que incumplen las normas. Es selectiva por que se orienta a aumentar la probabilidad de tomar productos sospechosos vigentes, las muestras que se toman para atender reclamos. En este sentido la (FAO, 1989), indica que, por lo general, las muestras se toman para ilustrar o documentar condiciones insatisfactorias observadas, o para permitir el análisis en laboratorio de un alimento posiblemente adulterado. Por su parte (Araya, H., et. al., 1994), manifiesta que cualquier forma de muestreo que no sea al azar se considera como muestreo selectivo. Si bien es cierto puede proporcionar datos útiles para la base de datos, éstos no pueden considerarse representativos de los alimentos tal como se producen comercialmente o como se encuentran a disposición del público general y hay que ser muy cuidadoso en el uso que se dará a estos datos.



Figura 93. Muestras selectivas en forrajes.

2.1.2.2 MUESTRA OBJETIVA

(FAO, 1989), Las muestras objetivas se suelen tomar de forma rutinaria para la supervisión de un lote de alimentos, para la recogida de datos con fines específicos o para observar y determinar si el alimento es insatisfactorio por cualquier razón. Se puede hacer así cuando en las inspecciones no se detecten condiciones insatisfactorias, o cuando aquéllas no puedan

llevarse a cabo con frecuencia. La toma de muestras objetiva puede resultar complicada, ya que es difícil proceder con objetividad cuando se trata de determinar la auténtica calidad de un lote determinado de alimentos no homogéneos.

El inspector se preguntará siempre si la muestra recogida fue demasiado pequeña, o excesivamente grande, y si la selección se hizo realmente al azar. De lo relatado por (Nariño, E., 2017), es un método recomendado por la FAO para productos alimenticios importados ya que no se han supervisado las operaciones de fabricación en el país importador y en consecuencia no se dispone de indicios para tomar muestras selectivas. El muestreo objetivo implica que el inspector tiene acceso a todas las unidades que componen el lote para el muestreo y que cada unidad es identificable y tiene las mismas posibilidades de resultar seleccionada. Se lleva a cabo extrayendo al azar pequeñas unidades de varios puntos dentro del lote, combinándolas luego para formar la muestra.

2.1.2.3 MUESTRAS MIXTA (OBJETIVA – SELECTIVA)

(Nariño, E., 2017) La mayoría de los muestreos son selectivos u objetivos sin embargo en ocasiones al recoger una muestra objetiva y a causa de alguna observación se puede cambiar a la toma de muestras selectiva.

2.1.3 MÉTODOS O TIPOS DE MUESTREO

(Mieres, J., 1980), el método de muestreo es fundamental a fin de enviar una muestra “representativa” para análisis al laboratorio del alimento a ser utilizado. No es fácil obtener una muestra representativa. La selección de la muestra es un paso muy importante en el análisis de los materiales que ingresan al laboratorio. Por más cuidado que se tenga en el análisis, éste no tiene ningún valor si se utiliza una muestra que no es igual al material en observación. (Corral, Y., et. al., 2015).

En otros términos, se categorizan las muestras en dos grandes ramas: las muestras probabilísticas. y las muestras no probabilísticas. Coincidiendo con (Tamayo, G., 2015), de acuerdo con el conocimiento o no que se tenga de la población, el muestreo puede ser: probabilístico y no probabilístico, según el cuadro, con sus derivaciones. (FAO, 2015) En el muestreo probabilístico es posible asignar niveles de confianza sobre la confiabilidad de la

muestra desde un punto de vista estadístico. En el muestreo probabilístico, el muestreo es a menudo realizado de manera de asegurar un 95 % de nivel de confianza en las estimaciones derivadas de la muestra. En el muestreo no probabilístico no es así. En el caso de las unidades, la representatividad depende del muestreo intencional.

Tabla 5. Tipos de muestreo probabilístico y no probabilístico

Probabilístico	No probabilístico
• Muestreo aleatorio simple (MAS) • Muestreo estratificado • Muestreo por conglomerados • Muestreo polietápico • Muestreo por áreas • Muestreo sistemático	• Muestreo por conveniencia • Muestreo según criterio • Muestreo por cuotas

Elaborado por (Tamayo, G., 2015)



Figura 94. Tipos de muestreo.

(EPIDAT 2016), incluye dentro de los probabilísticos, los siete procedimientos de selección de muestras más importantes y brinda los recursos necesarios para aplicarlos a marcos muestrales reales. Los procedimientos incluidos son:

1. Muestreo simple aleatorio
2. Muestreo sistemático en fases
3. Muestreo aleatorio estratificado
4. Muestreo por conglomerados monoetápico
5. Muestreo por conglomerados bietápico
6. Muestreo por conglomerados monoetápico estratificado

7. Muestreo por conglomerados bietápico estratificado

Por otro lado, (Alperin, M., 2014), indica que el muestreo probabilístico incluye solamente cuatro procedimientos los cuales son:

1. Aleatorio simple
2. Sistemático
3. Estratificado
4. Por conglomerados

2.1.3.1 MUESTREOS PROBABILISTICOS

Según (Alperin, M., 2014), este tipo de muestreos probabilísticos utilizan alguna forma de selección aleatoria de los puntos muestrales, como ventaja es que son los únicos que permiten realizar inferencias, calcular el error de muestreo y como desventaja es: más complejo en su realización. Para (Galmés, M., 2012), en este tipo de muestreo la totalidad de las unidades que conforman a la población tienen la misma posibilidad de ser escogidas. Para conformar una muestra probabilística, se necesita: determinar las características poblacionales, estimar el tamaño de la muestra y realizar una selección mecánica y/o por azar (aleatoria) de las unidades de análisis. De acuerdo con (Bolaños E., 2012), su principal ventaja es que se realiza la medición del tamaño del error en las predicciones a realizar; por tanto, puede afirmarse que el principal objetivo de configurar una muestra probabilística es reducir al mínimo el error estándar. Se realiza empleando reglas matemáticas de decisión que eliminan o minimizan la discrecionalidad del investigador. (Tamayo, G., 2015), da a notar que con este método es posible determinar la probabilidad que tiene cada elemento de la población de ser escogido en la muestra. Cuando las muestras son aleatorias, se pueden hacer afirmaciones probabilísticas acerca de la población en estudio.

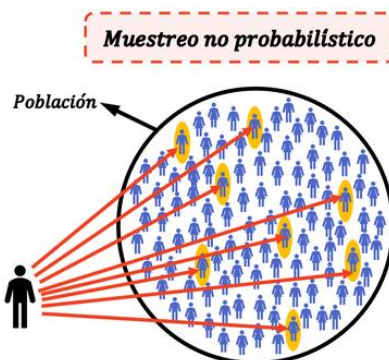


Figura 95. Muestreo Probabilístico.

2.1.3.2 MUESTREO ALEATORIO SIMPLE

(EPIDAT 2017). El muestreo simple aleatorio (MSA) es el procedimiento probabilístico de selección de muestras más sencillo y conocido. Es muy útil para obtener muestras de poblaciones pequeñas, pero no suele emplearse directamente para seleccionar muestras a partir de listas de unidades de análisis cuando las poblaciones son muy grandes. De acuerdo con lo manifestado por (Corral, Y., et. al., 2015), se trata del procedimiento de muestreo menos complejo. Se selecciona aleatoriamente la muestra representativa, cuando todas las unidades de la población son conocidas y la probabilidad de ser seleccionadas es la misma. Es fácil hallar las unidades y requiere de poca inversión monetaria en la recolección de la información. En este tipo de muestreo menciona (Amponsah, G., 2009), que se toman muestras aleatorias de manera que se garantice que todos los elementos del conjunto del alimento objeto de muestreo tengan la misma oportunidad de ser recogidos e incorporados a la muestra que se va a analizar. Por su parte (Greenfield, H., & Southgate, D., 2003), sostiene que en teoría es el ideal, pero resulta difícil de conseguir en la práctica y rara vez practicable cuando se toman muestras de alimentos para bases de datos nutricionales. (McRoberts, R., et.al., 2013). Se trata del diseño de muestreo de igual probabilidad menos arriesgado, pero también es el menos eficaz con respecto al coste y a la precisión de los cálculos, en parte debido a la correlación espacial entre las observaciones. (Araya, H., et. sl., 1994) El proceso al azar puede ser modificado dando peso a la distribución poblacional o considerando modelos de consumo regional, o sea, se puede ponderar. (FAO, 2015), esto sin embargo lleva tiempo, especialmente cuando la población está dispersa sobre un área geográfica amplia. En muchos casos un muestreo sistemático al azar puede ser preferido por razones prácticas

(Tamayo, G., 2015). El Muestreo aleatorio simple (M A.S.), es un método de selección de n unidades, sacadas de una población homogénea de tamaño N de tal manera que cada una de las muestras, tengan la misma oportunidad de ser escogidas. En el M.A.S. la muestra es sacada al azar unidad por unidad. Finalmente (Alperin, M., 2014), da a conocer que las propiedades de este muestreo son:

1. Cada miembro de la población tiene la misma chance de ser seleccionado.
2. Los individuos que constituirán la muestra son elegidos aleatoriamente mediante números aleatorios obtenidos por Tabla o programas en computadora.
3. La población debe ser homogénea respecto a la variable de interés



Figura 96. Muestreo aleatorio simple.

2.1.3.3 MUESTREO SISTEMÁTICO

(EPIDAT 2017) El muestreo sistemático (MS) es un procedimiento alternativo al muestreo simple aleatorio, que se usa para la selección de muestras equi-probabilísticas de una población organizada según cierto orden conocido. En función del método empleado para la selección de la muestra, el MS se denomina muestreo sistemático regular o muestreo sistemático en fases según se fije, respectivamente, el tamaño de la muestra que se desea seleccionar o el porcentaje de población que debe quedar incluido en la muestra. **(McRoberts, R., et.al., 2013).** El muestreo sistemático utiliza una cuadrícula fija, o una matriz, para asignar parcelas en un patrón regular. La ventaja del muestreo sistemático es que maximiza la distancia media entre parcelas y, por lo tanto, minimiza la correlación espacial entre observaciones e incrementa la eficacia estadística. Además, el muestreo sistemático, el cual se considera representativo en cierto sentido, puede resultar muy convincente para los responsables de la toma de decisiones que no tienen experiencia con

muestreos. (Corral, Y., et. al., 2015), una forma práctica para seleccionar unidades de análisis, es hacerlo en forma sistemática, escogiendo una unidad para seleccionar los sujetos muestrales. Es el tipo de muestreo por conglomerado más directo, para ello: el investigador selecciona k elementos en cada estrato y luego escoge de forma aleatoria los primeros elementos de esos k elementos. De acuerdo con lo citado por (Alperin, M., 2014), las propiedades de este muestreo son:

1. Se utiliza con frecuencia en lugar de un muestreo aleatorio.
2. Cada individuo es seleccionado según la n -ésima posición de una lista de los miembros de la población, el primero de ellos se escoge al azar.
3. Mientras que la lista no contiene ningún orden oculto, este método es tan bueno como el método de muestreo aleatorio. Su única ventaja con respecto a la técnica de muestreo aleatorio es la simplicidad.

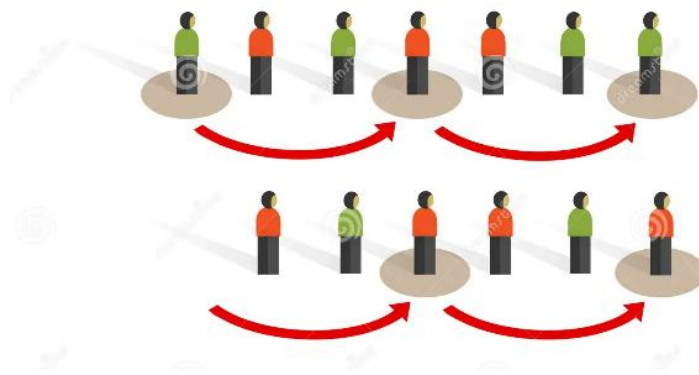


Figura 97. Muestreo sistemático.

2.1.3.4 MUESTREO ESTRATIFICADO

(Corral, Y., et. al., 2015), en este tipo de muestreo la población está constituida con estratos definidos, diferenciados claramente entre sí, pero en cada estrato poseen características homogéneas entre sus unidades. (EPIDAT 2017). Con este diseño lo que se procura es obtener una muestra que tenga en sí una variabilidad similar a la de la población; lo ideal sería conseguir que los subconjuntos que se definen como estratos fuesen internamente homogéneos y diferentes entre sí. (Greenfield, H., & Southgate, D., 2003), en este método, el conjunto del alimento se clasifica en estratos, teniendo en cuenta las causas más importantes de variación. Dentro de cada estrato, las muestras se toman al azar. Con

frecuencia es el mejor método para la labor de preparación de una base de datos. Los estratos pueden ser regionales, estacionales, de puntos de venta al por menor, etc., definidos por el conocimiento del alimento que se estudia. (McRoberts, R., et.al., 2013) El muestreo estratificado conlleva, en primer lugar, dividir la población en subpoblaciones que no se solapen, denominadas estratos y que, de forma conjunta, incluyen el conjunto de la población y, a continuación, dibujar una muestra independiente a partir de cada estrato. Si la muestra de cada estrato es una muestra aleatoria simple, la totalidad del procedimiento se describe como muestreo aleatorio estratificado. En primer lugar, la estratificación se emplea para aumentar la precisión de las estimaciones de la población. (Alperin, M., 2014) Luego de estratificar el área de estudio, la cantidad de elementos seleccionados en cada estrato estará en función de la variabilidad de los datos en cada uno de ellos. Dentro de cada estrato el muestreo será aleatorio simple o sistemático. El tamaño muestral en cada estrato también puede variar. Se debe considerar además lo manifestado por (Tamayo, G., 2015), quien indica que el muestreo estratificado aleatorio (M.E A.), se utiliza cuando la población es heterogénea y se tiene un listado de ella. En esta técnica la población de N unidades es dividida en subpoblaciones o estratos internamente homogéneos: $N_1, N_2, N_3, \dots, N_L$. Para permitir un análisis en profundidad se debe tomar en cuenta las razones para emplear la estratificación y que son:

1. Cuando se desee información con cierta precisión en algunas subdivisiones de la población, puesto que así se puede tratar cada subdivisión como una población por sí sola.
2. Por conveniencias de tipo administrativo.
3. Cuando los problemas de muestreo difieren marcadamente en diferentes partes de la población.
4. Con la estratificación se obtiene una mayor precisión en los estimadores de las características de toda la población puesto que los estratos son más homogéneos que la población

Las propiedades de este muestreo de acuerdo a (Amponsah, G., 2009) son:

1. En este método, el conjunto del alimento se clasifica en estratos, teniendo en cuenta las causas más importantes de variación.

2. Se toman unidades de muestreo de estratos definidos (subpartes) del conjunto de alimentos. Dentro de cada estrato, las muestras se toman al azar.
3. Con frecuencia es el mejor método para la labor de preparación de una base de datos. Los estratos pueden ser regionales, estacionales, de puntos de venta al por menor, etc., definidos por el conocimiento del alimento que se estudia.

(Alperin, M., 2014), también pone en consideración las propiedades y menciona que:

1. Consiste en subdividir a la población en grupos homogéneos en función al estudio que se desea realizar.
2. Es apropiado cuando la población ya está dividida en estratos y los estratos tienen diferente tamaño y es necesario tener ambos en cuenta.
3. Refleja de forma más precisa las características de la población estratificada en comparación con otro tipo de muestras.



Figura 98. Muestreo estratificado.

2.1.3.5 MUESTREO DE CONGLOMERADOS

(Corral, Y., ey. Al., 2015) Muestreo grupal o por áreas o por conglomerado Población compuesta por grupos cuyas características grupales son similares, pero cuyas características unitarias son muy heterogéneas. (Alperin, M., 2014). La población está subdividida en subpoblaciones llamadas conglomerados. Los conglomerados deben presentar toda la variabilidad de la población. Además, los conglomerados deben ser muy parecidos entre sí. La selección de los conglomerados que integran la muestra es al azar. Todos los elementos del conglomerado representan la población, de modo que conviene incluirlos a todos en la muestra. Una muestra de conglomerados usualmente produce un mayor error muestral y es menos precisa en las estimaciones que una muestra aleatoria simple del mismo tamaño, pero

es menos costosa y más rápida de muestrear. (Tamayo, G., 2015) El procedimiento en el muestreo por conglomerados consiste en dividir la población en M grupos denominados conglomerados. El muestreo por conglomerados se utiliza:

- Cuando no existe una lista de todos los elementos de la población, o sería muy costoso obtenerla.
- La población es grande y está dispersa en una región muy extensa.

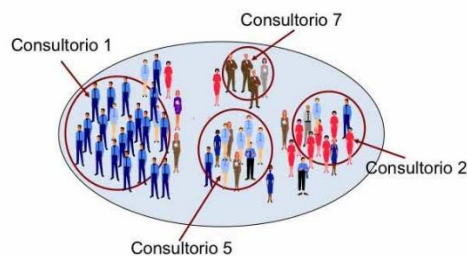


Figura 99. Muestreos conglomerados.

2.1.3.6 MUESTREO SELECTIVO

(Tamayo, G., 2015). Este método facilita la selección de la muestra puesto que es más fácil de ejecutar y menos costoso que otros. (Greenfield, H., & Southgate, D., 2003), reseñan que se toman muestras con arreglo a un plan de muestreo que excluye el material con ciertas características o selecciona sólo el de características bien definidas. El muestreo selectivo se utiliza en gran medida en estudios experimentales de explotación vegetal y animal. Los datos que se obtienen son una guía valiosa para la formulación de protocolos de muestreo. (Amponsah, G., 2009), que las consideraciones a tener en cuenta en este de muestreo son:

- Se toman muestras con arreglo a un plan de muestreo que excluye el material con ciertas características o selecciona sólo el de características bien definidas.
- Se usa casi siempre en el análisis de los contaminantes. Se puede utilizar con cautela en la elaboración de una base de datos.
- Este método se utiliza con frecuencia de manera acertada en el análisis de la contaminación, donde el objetivo puede ser la identificación de la exposición máxima a los contaminantes.

2.1.3.7 OTROS TIPOS DE MUESTREOS PROBABILISTICOS

Muestreo estratificado proporcional. (Corral, Y., et. al., 2015), este tipo de muestreo es de la población con estratos definidos, con características diferentes, pero dentro de cada estrato existe un número proporcional de miembros de los otros estratos. (EPIDAT 2017), menciona que típicamente, se opta por este método de muestreo cuando no se pueda disponer de un listado de unidades de análisis y/o cuando se quieren eludir algunos problemas prácticos que supondría el empleo de muestreo simple aleatorio o el muestreo sistemático, tales como la dispersión geográfica de las unidades de análisis a lo largo del territorio en que se halla ubicada la población.

Muestreo por conglomerados bietápico. (Tamayo, G., 2015), el muestreo por conglomerados bietápico se utiliza cuando un conglomerado contiene demasiados elementos para obtener una medición de cada uno de ellos, por otro lado, cuando los elementos de un conglomerado son tan semejantes que la medición de sólo unos cuantos proporciona información sobre el conglomerado completo. Existen dos condiciones para seleccionar una muestra por conglomerados en dos etapas:

1. Proximidad geográfica de los elementos dentro de un conglomerado, y
2. Tamaños de conglomerado convenientes para su manejo.

(EPIDAT 2017). Relata que el procedimiento de selección muestral para este tipo de muestreo se utiliza cuando hay gran variabilidad entre los tamaños de los conglomerados, o cuando el tamaño poblacional es demasiado grande. La población se divide inicialmente en conglomerados, que constituyen las unidades de primera etapa (UPE), parte de las cuales son seleccionadas para ser entonces objeto de subselección.

Muestreo polietápico. (Tamayo, G., 2015). El muestreo por conglomerados bietápico puede extenderse a un muestreo de tres etapas, cuatro etapas o muestreo polietápico. De acuerdo con (Corral, Y., et. al., 2015), en este tipo se toma la muestra en un área geográfica determinada: país, estado, ciudad, manzana, urbanización, barrio, municipio, otro. Un área geográfica se puede subdividir en: distritos escolares, prefecturas, parroquias, otras. En el muestreo grupal es importante que cada grupo sea tan similar como sea posible a los otros

grupos y, sin embargo, los individuos dentro de cada uno de ellos serán heterogéneos entre sí.

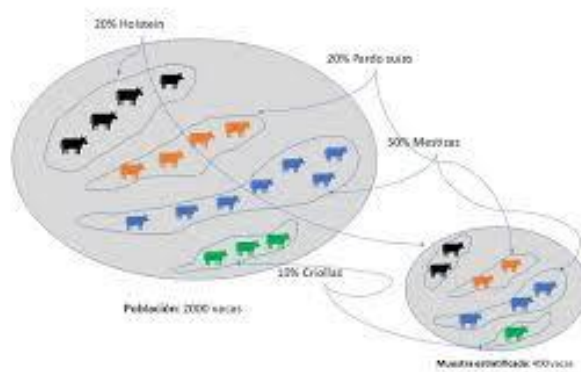


Figura 100. Muestreo estratificado proporcional.

2.1.4 MUESTREOS NO PROBABILISTICOS

(Palella, S. & Martins, F., 2011), dan a conocer que las muestras no probabilísticas se caracterizan porque la elección de los elementos muestrales no depende de la probabilidad; sino de causas relacionadas con las características consideradas por el investigador. Aquí, el procedimiento no es mecánico, tampoco tiene por base el empleo de fórmulas de probabilidad, va a depender del proceso de toma de decisiones del o los investigadores y, desde luego, las muestras seleccionadas por decisiones subjetivas tienden a estar parcializadas. (Alperin, M., 2014), refuerza el concepto al indicarnos que este tipo de muestreo no probabilístico no involucra una selección aleatoria de los puntos muestrales.

Las ventajas son: menos laborioso, más económico y de fácil realización. Siendo la desventaja más importante que no permite realizar inferencias acerca de la población. (Tamayo, G., 2015), sostiene que si se utiliza este método no se puede establecer de una manera exacta la probabilidad de que un elemento de la población participe en la muestra. Sin embargo, tiene su aplicación en los estudios exploratorios. Cuando las muestras se seleccionen de manera no aleatoria, sólo es posible hacer afirmaciones de tipo descriptivo sobre la muestra. (Corral, Y., et. al., 2015), también mantiene que, en este tipo de muestreo, no existe una oportunidad conocida que indique si un elemento particular del universo será seleccionado para conformar la muestra. No se puede calcular el error muestral.

(Corral, Y., et. al., 2015), en el muestreo No probabilístico, la selección de cada unidad de la muestra, en parte, tiene como base el juicio del investigador. En este tipo de muestreo no existe una oportunidad conocida que indique si un elemento particular del universo será seleccionado para conformar la muestra. No se puede calcular el error muestral. Se identifican los siguientes tipos:

- ✓ **Muestreo Accidental.** El investigador realiza la selección de las unidades muestrales en un momento imprevisto, sin haber sido fijado con anterioridad, de manera fortuita (accidental)
- ✓ **Muestreo Intencional.** También denominado muestreo opinático o de juicio, “se utiliza cuando es el propio investigador el que selecciona a los sujetos que considera apropiado”. Siendo este el más utilizado

Para (Alperin, M., 2014), menciona que existen diferentes tipos de muestreos no probabilísticos intencionales, siendo los más utilizados los mencionados a continuación:

- Juicio, criterio u opinión
- Por cuotas
- Accidental
- Por conveniencia
- Bola de nieve

(Icart, M., 2012). Entre estos procedimientos o técnicas los más empleados son:

- Muestreo por conveniencia
- Muestreo de Juicio o Criterio
- Muestreo por cuotas

Muestreo según criterio o juicio. Para (Tamayo, G., 2015), sostiene que con este método la selección de los elementos de la muestra se realiza de acuerdo con el juicio y criterio del investigador. En el análisis de (Alperin, M., 2014), manifiesta que los elementos de la muestra son seleccionados mediante juicio personal.

Muestreo por cuotas. De lo reportado por (Tamayo, G., 2015), las muestras por cuotas son un tipo especial de muestras a propósito. En este caso el investigador da pasos concretos con el fin de obtener una muestra que es similar a la población en algunas características de

“control”, anteriormente especificadas. Al respecto (Alperin, M., 2014), sostiene que para el muestreo por cuotas: se requiere conocer la población y/o los individuos más representativos. Se fijan cuotas que consisten en número de individuos con determinadas condiciones.

- ✓ **Muestreo incidental o de conveniencia.** Haciendo referencia a lo citado por (Greenfield, H., & Southgate, D., 2003), dicen que se toman muestras en función de la accesibilidad, la utilidad, el costo u otra razón no relacionada directamente con los parámetros del muestreo. Este método puede ser aceptable como práctica preliminar para obtener estimaciones de la variación de la composición, pero en general los datos generados utilizando este método deben considerarse como de baja calidad. Por su lado (Tamayo, G., 2015), da a conocer que es aquel con el cual se seleccionan las unidades muestrales de acuerdo con la conveniencia o accesibilidad del investigador. Este muestreo se puede utilizar en los casos en que se desea obtener información de la población, de manera rápida y económica. A su vez (Alperin, M., 2014), menciona que en este tipo de muestreo se seleccionan directa e intencionalmente a los individuos de la población que formaran la muestra. Se usa en estudios exploratorios y en pruebas piloto. (Amponsah, G., 2009), sugiere que se deben tomar las muestras en función de la accesibilidad, la utilidad, el costo u otra razón no relacionada directamente con los parámetros del muestreo.
- ✓ **Muestreo Accidental.** Para (Alperin, M., 2014), las muestras se obtienen sin ningún plan, son elegidas producto de circunstancias casuales. (Corral, Y., et al., 2015), da a conocer que el investigador realiza la selección de las unidades muestrales en un momento imprevisto, sin haber sido fijado con anterioridad, de manera fortuita (accidental).
- ✓ **Muestreo bola de nieve.** (Alperin, M., 2014). La premisa en este tipo de muestreo es que los elementos se relacionen entre sí. Se localizan algunos individuos de la población y estos conducen a otros que llevan a otros y así sucesivamente hasta tener una muestra de tamaño suficiente.

2.2 PLAN DE MUESTREO

De acuerdo con (Ruiz, F., 2022), Plan de muestreo, es el procedimiento planificado que permite seleccionar o tomar muestras separadas de un lote determinando para obtener la información necesaria sobre el criterio de aceptación o rechazo para evaluar el alimento inspeccionado. Para la (FAO, 2006), es un esquema en el que se determina el número de elementos que deben recogerse y el número de elementos no conformes que se requieren en una muestra para evaluar el grado de cumplimiento de las normas en un lote. Según (Araya, H., et. al., 1994), se entiende al procedimiento químico determinado para la selección, extracción, preservación, transporte y preparación de las porciones a ser removidas de una población para servir como muestras. El diseño del plan de muestreo debe utilizar información proveniente de diversas fuentes para tener datos de producción, almacenamiento y distribución de alimentos. De lo referido por (Nielsen, D., 2010), el plan de muestreo debe ser un documento bien organizado que establece los objetivos del plan de muestreo, cuáles son los factores para medir, el punto de muestreo, el procedimiento de muestreo, frecuencia de muestreo, tamaño de muestra, personal que se utilizará para el muestreo, preservación de las muestras, etc.

Para la (FAO 2006), indica que la inspección de un producto es importante en los procesos de fabricación. Para hacer conclusiones acerca de la aceptación de la calidad del producto se hace necesario extraer muestras y evaluarlas. A este proceso se le denomina planes de muestreo de aceptación. Estos planes de aceptación se aplican a producto en anaquel, intermedio y final, siendo el propósito del muestreo es una medición aleatoria de las características de calidad del lote de producto para determinar si se acepta o se rechaza. Los planes de muestreo se dividen en dos categorías:

1. Planes de muestreo por atributos
2. Planes de muestreo por variable



Figura 101. Plan de muestreo.

En este contexto (Nielsen, S., 2010), señala que los planes de muestreo están diseñados para examinar ya sea atributos o variables.

Para la (FAO, 2006), un plan de muestreo para la inspección por atributos es un método para evaluar la calidad de un lote consistente en clasificar cada porción de muestreo como una característica o atributo conforme o no conforme, según se cumpla o no una especificación. (Nielsen, S., 2010), da a conocer que el muestreo por atributos se realiza para decidir sobre la aceptabilidad de una población en función de si la muestra posee una determinada característica o no. (FAO, 2006), también señala que existe algunos tipos de planes de muestreo de aceptación por atributos, al respecto (Juárez, Y., 2018), señala que estos planes de muestreo por atributos pueden ser: simple, doble o múltiple.

1. Plan de muestreo simple, es el que considera una sola muestra de cada lote.
2. Plan de muestreo doble, es el que se considera dos muestras de cada lote.
3. Plan de muestreo múltiple, es el que considera más de dos muestras.

Por su lado (Ríos, J., 2011), añade que los planes de muestreo para juzgar lotes existen tres alternativas de decisión:

- (1) aceptar lotes sin inspección;
- (2) inspeccionar el 100% de los productos y
- (3) emplear un muestreo de aceptación, y dependiendo de la característica de calidad que se desea evaluar ésta se clasifican por atributos o por variables.

El muestreo por variable para (Nielsen, S., 2010), se realiza para estimar cuantitativamente la cantidad de una sustancia (por ejemplo, contenido de proteínas, contenido de humedad, etc.) o una característica (por ejemplo, color) en una escala continua. El estimado obtenido de la muestra se compara con un valor aceptable. De acuerdo con lo manifestado por (FAO, 2006), un plan de muestreo por variables es un método para evaluar la calidad de un lote consistente en medir, en relación con cada elemento, el valor de una variable que caracteriza el producto analizado

2.3 TOMA DE MUESTRAS

(FAO, 2006). Es el procedimiento que se requiere para elegir el material a analizar a partir de la totalidad del lote o partida. (Nariño, E., 2017) Las muestras extraídas deben ser representativas del total de la partida. Siempre que sea posible, se recomienda realizar el muestreo de envases cerrados, para evitar el riesgo de contaminación. (Serna, L & López, S., 2010) ;(Méndez, L., 2020), con el fin de evitar que se produzcan errores ajenos a la eficacia y exactitud del analista, hay que seguir los procedimientos correctos en la toma de muestras.

(Apraez, E., 2020), debido que el análisis se hace basado en una muestra pequeña, es necesario precisar que, para mayor validez y utilidad de los resultados, ésta debe ser representativa del lote donde fue tomada, lo que implica una toma de muestras con sumo cuidado, ya que muchos errores en los resultados pueden deberse a esta labor y no al proceso seguido en el laboratorio, lo que hace necesario seguir las recomendaciones sugeridas para los distintos tipos de alimentos. (Campillo, N., 2011), cuando este material es de gran tamaño y heterogéneo, la obtención de una muestra representativa requiere gran esfuerzo. La toma de muestra requiere un plan adecuado con el fin de conseguir una pequeña masa del material cuya composición represente con exactitud a la totalidad del material muestreado.

(Gracia, M., 2011). Se considera que la toma de muestra es una de las mayores fuentes de variación durante los procesos de análisis, por lo que se debe tener un gran cuidado en esta etapa. Por lo tanto, es importante conocer que las mediciones que se van a obtener en la

muestra son correspondientes a una distribución que posee una media o promedio determinado, y que el valor estimado desde la muestra no posee ningún sesgo y sea preciso.

No obstante, toda medición posee un grado de error, conocido como error estándar, y entre menor es este error mayor es la precisión. Algo muy importante en lo que se refiere al tratamiento de las muestras para análisis, es que se debe minimizar el tiempo entre la toma de la muestra y su acondicionamiento para análisis en el laboratorio. No se deben guardar las muestras bajo condiciones que pueden alterar su composición, tales como alta humedad, elevadas temperaturas, luz solar, entre otras.

La toma de muestra tiene como objetivo principal proveer de material para determinar algún aspecto de interés de una población o universo. Para la realización de la mayoría de los análisis de laboratorio se utilizan entre uno a dos gramos de muestra. Si comparamos esta cantidad de material con el total del material de donde proviene, en muchos casos parece insignificante, por lo que se deduce la importancia de poder contar para los análisis de laboratorio con una muestra que sea representativa del material que queremos analizar.



Ilustración 102. Toma de muestras.

2.4 TAMAÑO DE LA MUESTRA

(ARCSA, 2017) se define como tamaño de muestra al conjunto de productos que sumen 500gr o 500 ml para analizarse. De acuerdo con lo que reporta (Corral, Y., et. al. 2015), indica que el tamaño de la muestra dependerá del grado de representatividad que tenga, de las cualidades y características presentes en la población a estudiar. Además, se debe considerar según (Herrera, S., 2007), el tamaño de la muestra que es de gran importancia, pues debe combinar la cantidad necesaria que se debe tomar y la capacidad de procesamiento

que se disponga (en el laboratorio, el equipamiento y los recursos humanos). Una pequeña cantidad de muestra puede producir errores de representatividad, así como limitaría la realización de los análisis químicos.

Elevado peso de muestra dificultaría su manipulación, introduciría errores atribuibles al número de operarios y se necesitaría gran capacidad de estufas, lo que propiciaría gastos innecesarios de tiempo y electricidad. Por otro lado, se corre el riesgo que el secado no sea uniforme y con la rapidez deseada, lo que influiría negativamente en la composición química de la muestra. Vale la pena considerar algunas opiniones de expertos, como (Palella, F y Martins, F.,2011), quienes expresan que diversos autores coinciden en señalar que una muestra de 10%, 20%, 30% o 40% puede ser representativa de la población, acorde con su tamaño. Al respecto, (Busot, J., 1991), considera que una muestra de 30% de la población es suficientemente representativa para muestras aleatorias (al azar). (FAO, 2015) el tamaño de muestra será un compromiso aplicando los recursos disponibles – humanos, financieros, logísticos y tiempo.

La decisión final sobre el tamaño de muestra requiere a menudo que la persona responsable tome una decisión ya que tiene que hacer un compromiso entre esos dos componentes (tamaño de muestra estadísticamente óptimo y recursos disponibles). (Greenfield, H., & Southgate, M., 2003). La cantidad total del alimento que se necesita para los distintos análisis sirve de base para decidir el tamaño de las muestras. Para muchos alimentos, las partes individuales que se han de recoger son fácilmente identificables; en otros casos es necesario definirlas.

(EPIDAT, 2016) La determinación del tamaño de muestra es una tarea que se realiza durante la fase de diseño de un estudio para establecer el número de elementos que deben seleccionarse y lo reportado por (McRoberts, R., et. al.,2013), quienes refieren que es uno de los pasos más importantes a la hora de desarrollar un diseño de muestra. Si la muestra es demasiado pequeña, el nivel de incertidumbre será grande y si la muestra es demasiado grande, el coste será innecesariamente elevado. Es posible cuantificar la confianza prevista en los cálculos futuros obtenidos a partir de una muestra probabilísticamente válida. A

medida que el número de muestras aumenta, la varianza del error de cálculo disminuye, la precisión de los cálculos aumenta y es posible otorgar más confianza a la estimación. Por su parte (Raposo, C., 2015), señala que la cantidad de muestra necesaria para el análisis depende de las características de la muestra, del número de elementos a determinar y de la concentración de estos en la muestra objeto de análisis.

(Alperin, M., 2014), indica que el tamaño de la muestra está en función de la distribución de la variable aleatoria, del diseño de muestreo y del grado de precisión deseado y que para aumentar esta última, (la precisión) se logra solamente extendiendo el tamaño de la muestra. Que para el cálculo del tamaño muestral (n) es necesario establecer:

1. El margen de error (e) que será la medida de la precisión.
2. El nivel de confianza ($1-\alpha$). Por ejemplo, un nivel de confianza el 95% (100-5).
3. Hallar el valor de t según el nivel de confianza establecido y el tamaño de la muestra preliminar

(Murillo, B., 1994), en la tabla 6 realiza un resumen de la cantidad de la cantidad de muestra, que tipo de envase debemos utilizar en relación al tipo de muestra para el análisis respectivo

Tabla 6. Tamaño de muestra y tipo de envases para muestras

Tipo de alimento	Tamaño de la muestra (g/ml)	Tipo de envase
Alimentos balanceados, suplementos y alimentos sólidos	100 – 250 g	Frascos de vidrio, plástico o nalgano con tapa rosca. Bolsas de polietileno cerradas herméticamente
Alimentos líquidos	250 – 500 ml	Frascos de vidrio, plástico o nalgano con tapa rosca
Forrajes frescos, pastos, herbáceas y arbustivos	150 – 250 g en base seca 500 – 1000 g en base húmeda	Bolsa de papel grueso o tela, Cuando se deshidrata, usar bolsa de polietileno o frasco de vidrio o plástico
Forrajes henificados	150 – 250 g	Frascos de vidrio, plástico o nalgano con tapa rosca. Bolsas de polietileno
Forrajes ensilados	500 – 1000 g en base húmeda	Frascos de vidrio, plástico o nalgano con tapa rosca. Bolsas dobles de polietileno grueso
Líquido ruminal	300 – 600 ml para ovinos 600 – 3000 ml para bovinos	Frascos de vidrio, con tapa rosca de hule bien asegurada
Orina	50 – 75 ml	Frascos de vidrio, con tapa rosca
Heces de bovino, ovino, cerdo o ave	150 – 250 g en base seca	Frascos de vidrio, plástico o nalgano con tapa rosca. Bolsas de polietileno

(Murillo, B., 1994)

2.5 LA METODOLOGÍA DE MUESTREO

2.5.1 MUESTREO EN ALIMENTOS LÍQUIDOS Y SIMILARES

(Murillo, B., 1994) Para el muestreo de líquidos como melaza de caña, aceite, leche y aditivos líquidos adicionados a los ensilajes, se emplean dispositivos especiales que tienen trampas para abrirse y llenarse a la profundidad deseada. La toma de muestras de líquidos almacenados en recipientes, además de hacerse en diferentes sitios, se hace a diferentes profundidades, o bien durante el llenado o vaciado de los tanques. Cuando se trata de materiales de elevada viscosidad, hay que calentar el recipiente para garantizar uniformidad en el muestreo. Para (Apráez, E., 2020) señala que como norma, se debe muestrear un 10% de los recipientes. Es necesario mezclar bien el contenido antes de la toma de la muestra. Cuando se trata de tanques o carros cisterna debe valerse de una toma muestras apropiado, por lo menos una muestra de cada tanque. En el caso de que el producto (melaza o residuo de destilería de alcohol) tenga al momento del muestreo una temperatura superior a la normal, debe tenerse en cuenta para el análisis, la muestra final no debe ser menor de 500 ml. Por su parte (AGROCALIDAD, 2016), indica que se debe revolver o agitar el envase donde se encuentra el producto. Tomar la muestra en una de la siguiente forma: Transferir con un implemento esterilizado por lo menos 100 ml dentro de un envase limpio y seco, refrigerar o mantener a temperatura ambiente la muestra según sea el caso.



Figura 103. Muestreo de alimentos líquidos.

2.5.2 MUESTREO DE PASTOS Y/O FORRAJES EN PRADERAS

(Murillo, B., 1994) El muestreo de pastos en un potrero dependerá de la extensión de este. Se deben recolectar pequeñas cantidades en diferentes zonas del terreno, tratando de que los puntos de muestreo no queden alineados ni latitudinal ni longitudinalmente, ya que muchas

veces la formación geológica o la morfología de un terreno sigue patrones de bandas y la composición del suelo o su declive influyen para que haya diferencias en el desarrollo del forraje. (Mieres, J., 1980), el muestreo depende del tamaño y tipo de potrero. Las muestras deben ser tomadas de por lo menos 20 lugares distintos y al azar.

Se recomienda recorrer el potrero en zig-zag, detenerse cada 20 o 30 pasos. La altura de corte debe ser de 3 a 5 cm. o según el pastoreo que se realiza normalmente, o como indica (Podetti, M., 2010). Debe ser lo que estimamos que el animal come, al menos un puño por encima del suelo. (Gracia, M., 2011). Señala que uno de los métodos más comunes es el uso de cuadrantes o marcos de metal o madera que cubren 0.5 m² de área. Los cuadrantes se arrojan dentro del área al azar y se corta todo el material que se encuentra dentro del cuadrante. Cuando son pasturas de crecimiento erecto, por lo general la altura de corte se puede incrementar hasta unos 25 cm, ya que este tipo de pasturas por lo general es más susceptible a la defoliación severa, además de que por lo general los animales no las consumen extensamente.

(Jaurena, G., 2009). La técnica de muestreo puede variar según el objetivo del muestreo, las características del recurso y las condiciones particulares de manejo; no obstante, en cualquier caso, es necesario tener presente algunas consideraciones antes de iniciar el trabajo:

- La superficie para estudiar debe subdividirse en sectores homogéneos, tratando de evitar agrupar más de 10 has en una sola muestra.
- Evitar tomar submuestras en las cercanías de alambrados, bebederos, caminos, sectores de carga de equipos fertilizadores, etc.
- Definir previamente el sistema de muestreo (aleatorio, en zig-zag, etc.), la unidad de muestreo (marco, corte, etc.), y la altura de corte (de 3 a 5 cm, al ras del piso, solamente hojas, etc.).
- El muestreo debería acompañarse de una descripción del estado fenológico del cultivo estimado en la forma más exacta y objetiva que sea posible.

(Apraez, E., 2020) menciona que en el caso de los forrajes verdes es aconsejable seguir el siguiente protocolo y lineamientos para el muestreo de pastos o forrajes en praderas:

- Anotar los datos para caracterizar la muestra (día y hora).
- Delimitar el área de la pradera a ser muestreada.

- Son importantes datos como si hubo sol o lluvia.
- Tomar de 15 a 20 submuestras de toda el área.
- La muestra debe corresponder a la parte de la planta consumida por los animales
- Todas las muestras deben juntarse y mezclarse, tomando de esta la cantidad necesaria (1kg) para el análisis.
- Empacar la muestra en bolsas de plástico herméticamente cerradas.
- Estas deben llevarse al laboratorio en el menor tiempo posible; donde se deben pesar, secar y conservar de manera adecuada para los análisis posteriores. Si esto no es posible, se debe congelar hasta el envío.
- La identificación de la muestra debe incluir el tipo de forraje, su estado fenológico, parte de la planta a que corresponde, fecha y sitio de recolección, indicando en lo posible los datos climatológicos y aquellos que puedan ser particulares del lugar de muestreo

(Alarcón, M., 2017) Existen diferentes tipos de muestreo, se encuentran al:

- A. Destructivo: Este tipo es donde se corta el forraje, para poder pesarlo.
- B. No destructivo: No se corta el forraje. Se basa en determinar la altura y densidad del cultivo e inferir la productividad existente en ese momento.
- C. Semidestructivo: También conocido como botanal, que incluye la composición botánica de la pradera. Se toman algunos cortes de referencia, comparando estos con áreas similares en los que visualmente se calcula la producción

Este mismo autor nos refiere que existen técnicas aleatorias en la toma de muestra y son:

- a. Zigzag. Caminar en forma de zigzag en la superficie
- b. Cuadrantes. Cuadricular el área con solo referencias visuales que nos permita ubicar los cuadrantes, por ejemplo, árboles o poner estacas en las orillas
- c. En V. La técnica en V, es poco recomendable, ya que no se recorre toda la superficie y quedan los extremos del vértice y la parte central de la V sin muestrear

En el caso de especies para corte (Gracia, M., 2011), indica que se debe seleccionar plantas consecutivas dentro de varias hileras del material sembrado, que muestren un crecimiento promedio del campo, y se cortan a alturas inferiores a los 10 cm o a ras del suelo, para permitir

el crecimiento de nuevo material. El material cortado es pesado individualmente, de forma que pueda estimarse posteriormente la cantidad producido por hectárea. Dependiendo del número de muestras tomadas en campo, se pueden tomar submuestras en cada localidad para conformar una, dos o tres muestras finales del campo, o bien tomar todo el material cortado para preparar la muestra que será enviada al laboratorio. (Murillo, B., 1994), si se desea conocer el rendimiento forrajero, es-necesario medir el forraje de una determinada unidad de área. Generalmente se hace utilizando un marco cuadrado (hecho de metal o de madera) de un metro por lado o $0.50 * 0.50 \text{ m}^2$, arrojándolo al azar en las direcciones radiales del potrero.

(Alarcón, M., 2017), el material muestreado sirve para el registro de datos productivos de los pastizales, que permitan inferir subsecuentemente la producción esperada en determinado predio, para estimar presupuestos forrajeros en cada época del año. (Castillo, E., et. al., 2017), el muestreo adecuado de los forrajes permite desarrollar un inventario de estos, lo cual es necesario para proporcionar un forraje de alta calidad a los animales que producen más y los forrajes de menor calidad a los animales de menor producción.

(Gracia, M., 2011) La forma como obtengamos la muestra del campo va a depender del tipo de material que queremos analizar. Así podemos tener materiales desde gramíneas de piso, decumbentes, erectas, de corte, como también leguminosas de tipo arbustivo, rastreras, trepadoras, entre otras. (Guiñez, A., & González, H., 2014), las recomendaciones generales para la toma de muestras de pastos y/o forrajes son las siguientes

- 1) Las muestras, para que sean representativas deben estar compuestas de por lo menos 25 submuestras de 50 g. cada una. De estas submuestras, una vez mezcladas, se obtiene una muestra de un peso aproximado de 500 g. En general, se necesitan dos muestras por hectárea.
- 2) Las formas de obtener las submuestras en el terreno son variadas; pueden ser en zigzag, en diagonal, etc., pero, en cualquier caso, deben cubrir completamente la superficie que se quiere analizar. Las submuestras se sacan cada 10-15 m. En cultivos y plantaciones establecidas, si dentro del mismo potrero se presentan sectores con plantas aparentemente sanas, deben muestrearse en forma separada.

- 3) Las muestras pueden sacarse en cualquier época del año, pero en la práctica se recomienda que sea cuando el potrero se recorra con facilidad y el suelo no esté ni muy húmedo ni muy seco.
- 4) Las muestras obtenidas deben conservarse a una temperatura de 7° C hasta el momento en que se analicen. El análisis debe realizarse lo antes posible después de recogidas las muestras; si esto no es posible pueden mantenerse alrededor de 5 a 7 días en refrigerador a la temperatura antes indicada, o en un lugar fresco, para evitar la pérdida de humedad y la descomposición de las partes vegetales.
- 5) Equipo: para obtener las muestras se necesita disponer de un barreno de suelo o pala, un balde o tiesto limpio para mezclar las submuestras, bolsas plásticas limpias para envasar y etiquetas de identificación que deberán llevar.

Al final de esta unidad se coloca como anexo la descripción para la “Determinación de la disponibilidad del pasto por el método de Haydock y Shaw”., que se utiliza además como muestreo para el análisis de laboratorio.



Figura 104. Muestreo de pastos o forrajes en praderas.

2.5.3 MUESTREO DE ENSILAJES

(Castillo, E., et. al., 2017), El ensilado puede ser muestreado ya antes de colocarse en el silo o bien al momento de usarse en la dieta. Cuando el forraje es ensilado apropiadamente, los resultados de muestras frescas serán similares a lo de los forrajes fermentados, por lo que se recomienda tomar muestras al momento de ensilar el material con esta práctica se obtendrá resultados más precisos. De acuerdo con (Apráez, E., 2020), la toma de muestra de un silo es difícil y en muchos casos imposible pues su composición puede variar mucho con la

profundidad del silo, principalmente hay variaciones entre las capas superiores, laterales y las situadas centralmente o en las capas inferiores. Por lo tanto para (Mieres, J., 1980); (Podetti, M., 2010), es preferible muestrear mientras se va llenando el silo, tomando de 4 a 5 puñados del material a ensilarse a medida que las cargas son traídas al silo.

(Podetti, M., 2010) En el silo ya elaborado, tenga en cuenta que el silo debe estar estabilizado (6 a 8 semanas después de cerrado). (Gracia, M., 2011) Una vez que se procede a abrir el silo, se deben tomar muestras de las áreas expuestas, que estén libres de daños visibles (color oscuro, hongos o mohos). (Martínez, A., et. al., 2014). Es necesario tomar las muestras para análisis antes de empezar a suministrar el ensilado a los animales, por tanto, el muestreo de los silos para efectuar su caracterización nutricional, debe ser realizado con suficiente antelación a la apertura de los mismos.

(Murillo, B., 1994), la obtención de una muestra representativa del contenido total de un silo es sumamente difícil, ya que durante el llenado del silo hay partes que se compactan mejor debido a mayor presión o mejor acomodo del material picado. Esto provoca que la fermentación sea diferente de una zona a otra y por lo tanto, su composición. Una vez tomada y homogeneizada, la muestra debe colocarse rápidamente en un recipiente cerrado, ya que los ensilajes contienen sustancias volátiles como alcoholes y ácidos grasos.

La muestra debe compactarse lo más que se pueda para conservar las condiciones de anaerobiosis y evitar cambios en el patrón de fermentación y, por lo tanto, en su composición. Una forma práctica de lograrlo es utilizando bolsas de polietileno lo suficientemente gruesas para resistir la presión al compactar la muestra dentro de ellas. Una vez empacadas las muestras de ensilaje, deben congelarse y permanecer en ese estado durante su transporte y hasta su análisis.

(López, E., 2004) Para muestrear un silo, se recomienda tomar unas 20 submuestras del material que se corta o raspa de la cara del silo, para la alimentación del día. Asegurarse de que las submuestras sean representativas e incluyan de todos los tamaños de partícula del silo. Evitar incluir partes de las orillas o superficies expuestas del silo. Juntar las submuestras

en una cubeta de 20 Lt y utilizar el método de “cuarteo” para reducir la muestra a 500 gramos, aproximadamente.

De acuerdo con lo recomendado por (Podetti, M., 2010), tomar 10 a 15 submuestras (puñados) de distintos lugares de la cara del silo y nunca a menos de 30 cm de la superficie visible y por otro parte (Gracia, M., 2011) recomienda que, para silos en bolsa, se pueden tomar muestras de cada bolsa según se estén utilizando, y en el caso de “silopress” tomar muestras a medida que se avance en su abertura.

(Apráez, E., 2020), en silos cerrados, se puede usar sondas, debiendo sellar los orificios por donde se perforó para el muestreo. Se recomienda refrigerar las muestras cuando el laboratorio está distante del sitio de recolección con el fin de preservar las características físicas y químicas del ensilaje. Un sistema apropiado es utilizar una sonda cilíndrica similar a aquellas con que se toma muestras de suelo. La muestra de ensilaje (2kg) se introduce en un recipiente hermético y se aprieta lo más posible para enviar al laboratorio.

(Jaurena, G., 2009), Sí el objetivo es caracterizar el ensilaje (producto de las características del cultivo original y del trabajo de confección; esperar 6-8 semanas de fermentación para asegurar que el forraje se haya estabilizado) y muestrear:

- No incluir material deteriorado (por ejemplo, la capa superficial expuesta al aire de algunos silos).
- Las muestras deberían tomarse con calador en distintos puntos y a diferentes profundidades.
- Conservar la muestra en una bolsa plástica bien cerrada y conservar en heladera o congelador.
- Identificar y hacer llegar la muestra al laboratorio a baja temperatura lo más rápidamente posible.

(GAQSA, 2019), reporta que Las consideraciones a tener en cuenta para obtener una mejor muestra de silo es:

- No sacudir la muestra obtenida.
- No tomar la muestra muy cerca de la capa superficial o cerca de las paredes, muros o límites del Silo.

- Asegurarse de homogeneizar bien todas las submuestras obtenidas.
- Extraer todo el aire posible antes de sellar la bolsa donde se ha colocado la muestra.

Por su parte (Apráez, E., 2020), hace referencia que los lineamientos para el muestreo de ensilajes son:

- El muestreo se debe realizar preferiblemente después de abrir el silo
- Las muestras se deben tomar en varios puntos de corte frontal cuando la fermentación se ha estabilizado, es decir, cuando el silo está frío.
- Recoger al menos 10 submuestras, unos 15 cm por debajo del nivel superior del silo para evitar el material expuesto al aire ya la luz
- Mezclar perfectamente las submuestras y tomar unos 2 a 3 kg para enviar al laboratorio.
- Las muestras deben ser empacadas en bolsas de plástico o recipientes de vidrio, eliminando por completo el aire.
- Enviar al laboratorio tan pronto como sea posible o mantener en el refrigerador hasta su envío.
- Las muestras deben estar preferentemente embaladas en cajas de icopor.
- La identificación debe incluir el tipo de material ensilado (lo más detallado posible), si se ha añadido aditivo o inóculo (tipo), fecha de muestreo y procedencia.



Figura 105. Muestreo en ensilajes.

2.5.4 MUESTREO DE FORRAJE HENIFICADO

(INTA, 2002). El muestreo adecuado del heno es de fundamental importancia para asegurar que la muestra obtenida represente en forma precisa la calidad de todo el volumen que conforma una partida. Esto se debe a que un gran número de toneladas de heno altamente variable debe estar representado en una muestra de tamaño mínimo que a menudo es de 250

a 350 gramos. La muestra extraída no sólo debe representar la proporción apropiada de hojas y tallos (recordemos que el contenido de nutrientes de ambas fracciones es muy diferente). (Apráez, E., 2020), tampoco es fácil la toma de muestra de este tipo de alimento, puesto que el desprendimiento de las hojas hace variar el contenido de nutrientes. Se debe tomar, por lo tanto, gran número de muestras para mezclarse y coger la muestra final (2kg) para enviar al laboratorio. El número de muestras varía en función del número de fardos, se recomienda muestrear al menos 10% de ellos. (Castillo, E., et. al. 2017), considerando que el muestreo a mano no da resultados confiables y consistente, porque a veces se colecta tan solo un puñado de hojas y que frecuentemente las hojas son arrancadas del tallo y las mismos están excluidos del muestreo.

(Gracia, M., 2011), indica que existen diversos dispositivos para tomar muestras de heno, el más común consiste en una especie de tubo de acero inoxidable de aproximadamente 45 cm de largo y 3 cm de diámetro con un extremo con bordes cortantes. Se puede asumir que cada muestra representará el total de la paca y tomando un número suficiente de muestras de diversas pacas se obtiene una representatividad del heno. No se debe tratar de separar las hojas de los tallos cuando se toma este tipo de muestra. O a su vez (Mieres, J., 1980), revela que, para muestras de heno, se puede utilizar un calador similar al utilizado para muestrear suelos.

Existe diferentes maneras de almacenar el heno, siendo los más comunes los que se detalla a continuación y que se debería muestrear de la siguiente manera: Fardos «flojos»: se debe muestrear hasta el fondo y en fardos compactos hasta la mitad del calador. Fardos pequeños: se toman muestras del centro de la cara más chica del fardo. Rollos grandes: tome la muestra en forma perpendicular al rollo. En todos los casos tome por lo menos de 10 a 15 muestras para luego formar una muestra compuesta de aproximadamente un kg. Es necesario además tomar en cuenta los manifestado por (López, E., 2004), quién afirma que las pacas de heno se deben muestrear lo más cercano posible a su uso en alimentación. Utilizar un muestreador tipo “barrena” de 1 a 2 cm de diámetro por 60 cm de longitud, diseñadas para este propósito.

No se recomienda tomar muestras “a mano” de pacas abiertas, porque se altera la relación hoja-tallo. Tomar de 15 a 20 de manera aleatoria, alrededor de la pila de pacas.

(Bragachini, M., 1995), como propuesta de metodología de toma de muestras para heno se debe uniformar y estandarizar la toma de muestras destinadas al análisis de los diferentes forrajes conservados, surge en primer lugar la necesidad de definir el lote del que se van a extraer las muestras. Es de vital importancia separar lotes que hayan sufrido lluvias o zonas que contengan más malezas, con diferentes condiciones de suelo o que hayan recibido diferentes tratamientos. Por su parte (Jaurena, G., 2009); (Apraez, E., 2020), aseveran que los rollos o fardos no presentan una composición uniforme a través de todo su volumen, por lo tanto, es importante obtener muestras representativas de los distintos sectores. Como lineamientos para el muestreo del forraje henificado se debe proceder como se indica a continuación:

1. La muestra debe estar constituida por submuestras tomadas de un lote homogéneo, evitando el material muy alterado del exterior.
2. Las submuestras deberían tomarse con barreno atravesando el fardo en diagonal en sentido longitudinal. En caso de carecer de barreno, los fardos podrían muestrearse abriéndolos y separando con cuidado porciones representativas, aunque es muy difícil obtener una muestra representativa de éste modo.
3. Por debajo de 200 unidades deberían muestrearse no menos de 20 unidades. Para más de 200 unidades muestrear el 10%.
4. Homogeneizar y reducir para enviar al laboratorio (aproximadamente 250 g MS), o de preferencia 1 kg, tomando y mezclando submuestras de acuerdo con la cantidad de pacas
5. La muestra se puede disponer en bolsa de papel o plástico para enviar al laboratorio.
6. Hasta su envío al laboratorio, conservar a temperatura ambiente en un lugar seco (nunca en heladera o congelador).
7. Identificar para remitir al laboratorio, adjuntando información como: el tipo de muestra, el tiempo de almacenamiento, la edad de corte de la planta, la(s) especie(s) forrajera(s), la fecha de recogida y procedencia.



Figura 106. Toma de muestra en heno.

2.5.5 MUESTREO DE RAÍCES Y TUBÉRCULOS

Según (Apráez, E., 2020) en este caso, la muestra debe tomarse por la recogida al azar de unidades aisladas de todas partes del depósito o almacén, debido a su elevado contenido de agua, la muestra no debe ser pequeña, requiriéndose unos 5 a 10 kg. Seguidamente se troceará y mezclará para extraer la cantidad (3kg) para enviar al laboratorio; estas muestras por su alta humedad y contenido de carbohidratos fermentables suelen deteriorarse con facilidad, por lo que es preciso hacerlas llegar muy pronto al laboratorio o conservarse refrigeradas hasta su entrega para los análisis requeridos. (Guiñez A., & González, H., 2010), nos explican que un muestreo en raíces y tubérculos debe hacerse por especie y variedad. Según (Piedra, R., 2015) señala que antes de iniciar este tipo de muestreo, el productor debe tener bolsas de plástico, marcador permanente, azadón, pala y cuchillo, tomando en cuenta que todo el material debe estar limpio y en buen estado, siendo necesario que la muestra final esté compuesta de varias submuestras, recomendándose de 50 a 80 submuestras por hectárea.



Figura 107. Toma de muestras en raíces y tubérculos.

2.5.6 MUESTREO DE GRANOS Y CONCENTRADOS

(Mieres, J., 1980); (Apráez, E., 2020) considera que el muestreo de granos y concentrados depende de su presentación ya que suelen estar en depósitos a granel o en empaques abiertos o sellados. Estos (empaques) pueden presentarse en estado de granos enteros, triturados, harinas o peletizados. En todo caso de la cantidad máxima de la que debe tomarse una muestra no debe sobrepasar las 50 toneladas. Si el alimento se presenta en empaques deben tenerse en cuenta dos consideraciones: Si se trata de un solo alimento o si es un alimento compuesto y la capacidad del empaque. Para obtener la muestra definitiva se deben mezclar todas las submuestras parciales en una superficie lisa y limpia, su peso total debe alcanzar como mínimo 2 kg en el caso de alimentos harinosos y 3 kg en el caso de granos o pellets.

De esas muestras deben tomarse cantidades pequeñas hasta completar 500 g para los análisis de laboratorio. (Gracia, M., 2011), las muestras de granos o mezclas de alimentos que están envasados en bolsas se pueden tomar con un dispositivo o probador adecuado para tal propósito. Se deben tomar de cada saco un par de muestras del centro del saco, o hay quienes prefieren tomar muestras de la parte superior, inferior y del medio del saco, pues se da la tendencia que material más fino, así como el más denso, si los sacos han sido manipulados, se segreguen hacia el fondo o costados, si están estibados. Para lotes de una a diez bolsas (sacos) deberán tomarse muestras de todas las bolsas.

Para lotes mayores a 11 sacos, se debe tomar muestras de al menos diez bolsas al azar. Las bolsas se colocan horizontalmente y se toman muestras diagonalmente, una de cada bolsa, y para menos de 4 bolsas tomar de cinco a más muestras diagonalmente. (AGROCALIDAD, 2016), da a conocer en la tabla 6 Que se presenta a continuación un esquema del número de sacos que se debe seleccionar acorde al tamaño del lote o cantidad de bolsos que disponemos para análisis.

Tabla 7. Número de sacos seleccionados para el muestreo de materias primas y/o balanceados para alimentos para animales

Tamaño del lote	Número de sacos a ser seleccionados
Hasta 50	1
De 51 a 100	3
De 101 a 300	4
De 301 a 500	5
Más de 501	7

(AGROCALIDAD, 2016) Norma INEN 618 1981

(Mieres, J., 1980). Para tomar muestras de material almacenado a granel, tome por lo menos muestras de 20 lugares diferentes. (Podetti, M., 2010). Al realizar el muestreo, asegurar el correcto mezclado previo a este, tome 15 submuestras (puñados) de distintos lugares. (Méndez, L., 2020). Las muestras a granel de materiales granulares o pulverulentos, se realiza por cuarteo, según el siguiente procedimiento: Se depositan los gránulos o polvo sobre una gran hoja de papel y se mezcla con una espátula, a continuación, se traza una cruz sobre el montón de material apilado y luego se eliminan dos de los segmentos opuestos y se vuelven a introducir en el paquete original. Se continúa este procedimiento hasta que quede una muestra de unos 250 gramos que se transfiere a un frasco de muestras y se tapa herméticamente.

(Gracia, M., 2011) En caso de que el material este a granel tomar muestras a medida que el material está siendo utilizado. De igual forma, estas muestras deben ser mezcladas totalmente y luego tomar las submuestras para el laboratorio. (FAO, 2006), si el contenedor lo permite, tome la muestra en forma aleatoria, de lo contrario tome varias muestras de los extremos y centro del contenedor para obtener una muestra representativa. Cuando la toma de muestra se realice en un conducto de salida o una compuerta de una partida a granel, antes de obtener la muestra se deben dejar pasar las primeras fracciones del producto para limpiar dicha salida con el flujo.

(Jaurena, G., 2009), como lineamientos para el muestreo del material a granel se debe proceder de la siguiente manera:

1. Tomar con un calador un numero de submuestras representativo del camión o silo.
2. Si se muestrea durante la descarga del camión, recoger con un recipiente a intervalos de tiempo regulares alícuotas directamente de todo el ancho del chorro de descarga.
3. Homogeneizar y reducir para enviar al laboratorio (250-500 g).
4. En caso de ser mezclas asegurarse de que la distribución de los ingredientes sea homogénea.
5. Productos almacenados en bolsas
6. La muestra debe estar constituida por submuestras tomadas de un lote homogéneo, evitando el material procedente de partidas diferentes.
7. Para asegurar que la muestra sea representativa, las submuestras deberán tomarse con calador sobre la mayor cantidad de bolsas que posible. Cuando el número de bolsas es inferior a 200, muestrear sobre 20 unidades, cuando el número es mayor, el 10% del lote. Asegurarse que las muestras sean representativas de las distintas partes de las bolsas muestreadas y de distintas zonas de la estiba (penetrar las bolsas con el calador en diagonal de abajo hacia arriba).
8. Homogeneizar y reducir para enviar al laboratorio (aproximadamente 250 g MS).
9. Disponer la muestra en una bolsa de papel o plástico.
10. Hasta su envío al laboratorio, conservar a temperatura ambiente en un lugar seco (nunca en heladera o congelador).
11. Identificar y remitir al laboratorio (250-500 g).



Figura 108. Toma de muestras en granos y concentrados.

2.5.7 MUESTREO EN ALIMENTOS LIQUIDOS Y SIMILARES

(Apráez, E., 2020). Para el caso de muestras de alimentos como la melaza, emulsiones, etc., de cada 100 recipientes como mínimo debe tomarse una muestra, cuando estos productos vienen en recipientes de gran capacidad. En otros casos como norma, se debe muestrear un 10% de los recipientes. Es necesario mezclar bien el contenido antes de la toma de la muestra. Cuando se trata de tanques o carros cisterna debe valerse de una toma muestras apropiado, y muestrear por lo menos una muestra de cada tanque. En el caso de que el producto (melaza o residuo de destilería de alcohol) tenga al momento del muestreo una temperatura superior a la normal, debe tenerse en cuenta para el análisis. La muestra final no debe ser menor de 500 ml.

2.5.8 MUESTREO DE GRASAS Y ACEITES

Según (Llamas, R., 2012) Hay que especificar el método de muestreo y el tipo de recipiente del que se extrajo la muestra; en algunos casos, como en los aceites y grasas, puede ser necesario un ligero calentamiento del material para poder ser muestreado; si se sospecha de la presencia de sedimentos, es necesaria la mezcla del producto además del empleo de un instrumento que permita la extracción del material del fondo. Las muestras se guardan en frascos de limpios y secos, procurando que las mismas sean de por lo menos 250 ml. en aceites y 250 g. en grasas. (Cala, S., et. al., 2011) El muestreo de aceite para análisis de calidad debe realizarse con frecuencia de una hora en la salida del proceso hacia almacenamiento. La evaluación en otros puntos y momentos (tanques de almacenamiento y vehículos de despacho) depende de las disposiciones internas de las plantas extractoras. La muestra debe ser almacenada en un recipiente apropiado, limpio, seco y con tapa, con el fin de evitar contaminaciones y variaciones de humedad. De lo referenciado por (Arce, A., 2013). Las muestras para grasas y aceites se toman por separado de los otros parámetros. Se sumerge el frasco de muestreo previamente etiquetado e identificado, y se llena hasta aproximadamente 3/4 partes del volumen, cuidando que quede un espacio vacío para permitir la fijación de la muestra y para evitar que la "nata" se adhiera a la tapa del frasco.



Figura 109. Toma de muestras en grasas y aceites.

2.5.9 MUESTREO DE MATERIAL BIOLÓGICO

(Murillo, B., 1994) Para conocer los nutrientes que metaboliza el organismo hay que conocer los que ingiere, los que excreta y los que acumula. Para saber los que ingiere, basta con analizar los alimentos que consume el animal; para saber los que excreta generalmente basta con analizar las heces y la orina. El objetivo de coleccionar heces y orina es para realizar estudios de digestibilidad, de balances de nitrógeno, de calidad de proteína, etc. Cada prueba tiene su metodología especial de la cual dependerá la forma de muestreo. No, es la misma colección para digestibilidad utilizando marcadores que la colección total de los desechos.

Cuando se conduce un experimento en el cual se recolectan todas las heces excretadas, ya sea con trampas en las jaulas metabólicas o arneses-especiales, se debe hacer la colección diaria y aproximadamente a la misma hora. Se deben pesar las heces y separar una parte (generalmente el 2 ó el 3% para bovinos y el 10% para ovinos), desechando el resto. Al final del período de recolección se mezclan las heces y se toma una parte (500 g aproximadamente) para su envío al laboratorio. En el uso de marcadores (Cr_2O_3 , Fe_2O_3 , etc.) y de indicadores (sílice, lignina, etc.) en las pruebas de digestibilidad tienen la ventaja de que no es necesario recolectar la totalidad de heces; sólo es suficiente una parte de lo excretado; sin embargo, hay algunas variantes en cuanto a la forma y período de colección.



Figura 110. Toma de muestras de material biológico.

2.6 PREPARACIÓN DE LAS MUESTRAS

De acuerdo con (Palacios, M., 2018), la preparación de la muestra se puede definir como la etapa del proceso analítico en la que se realizan todas aquellas operaciones necesarias para convertir la muestra en una forma adecuada para el análisis, comprendiendo todas las transformaciones que se realizan desde que se obtiene la muestra de laboratorio hasta que se llega a la etapa de medida del analito o los analitos de interés. (Serna, L., & Lopez, S., 2010) indican que la preparación de la muestra para el análisis incluye el proceso de una disminución cuantitativa de ella, reducción del tamaño de la partícula y la mezcla de las diversas partes constituyentes de la muestra para obtener una sustancia homogénea. Por otro lado, (Apráez, E., 2020), da a conocer que la manipulación posterior dada a las muestras después del muestreo es tan importante como el muestreo mismo, ya que el manejo inadecuado de estas puede alterar algunos constituyentes, como en el caso de los ácidos grasos volátiles de los ensilajes que no fueron conservados en congelación. Finalmente (Campillo, N., 2011), cita que, si la muestra es sólida, lo más habitual es proceder a su trituration para disminuir el tamaño de partícula, mezclarla de forma efectiva para garantizar su homogeneidad y almacenarla en condiciones adecuadas, si el análisis no se va a llevar a cabo de inmediato. En el caso en que la muestra ya se encuentre en estado líquido, pero no vaya a analizarse tras su recogida, por supuesto las condiciones de almacenamiento han de tenerse en consideración; por ejemplo, si una muestra líquida se mantiene en un recipiente abierto, el disolvente podría evaporarse modificando así la concentración del analito.

2.6.1 MOLIENDA DE LAS MUESTRAS

(Gracia, M., 2011) De manera general, todas las muestras que serán sometidas a análisis deben ser molidas. Los materiales colectados en campo, en especial los forrajes, poseen

partículas de gran tamaño, por lo que se debe reducir su tamaño para realizar los análisis correspondientes. La reducción en el tamaño de las partículas permite que la submuestra utilizada para el análisis sea representativa de todo el material colectado.

Las partículas grandes se reducen para que puedan colocarse en el molino, esto se puede realizar con algún instrumento de acero inoxidable para no contaminar las muestras. Cuando las partículas de la muestra son muy grandes, se aconseja molerlas inicialmente utilizando mallas que permitan obtener un tamaño de partícula entre 4 a 6 mm. Por lo general, para la molienda final, se utilizan mallas en el molino que permitan reducir el tamaño de las partículas entre 0.75 hasta 1 mm. El tipo de molino a utilizar dependerá del tipo de muestra y su nivel de humedad. El molino de cuchillas o martillo trabaja bien para muestras con 80 a 85% de materia seca, sin embargo, el de bolas o tipo ciclón requiere que las muestras tengan entre 90 a 95% de materia seca para poder ser molidas sin problemas. Finalmente se procede a la identificación apropiada de la muestra.



Figura 111. Molienda de la muestra.

2.6.2 PRESERVACIÓN O CONSERVACION DE LA MUESTRA

(Méndez, L., 2020) Si una vez que la muestra ha sido recolectada y no es posible llevar al control de calidad en el mismo día, es preciso evitar los cambios en su composición, para ello es necesario conservarla adecuadamente. (Apráez, E., 2020). Algunas muestras se deben refrigerar o almacenar en un congelador, además el óptimo sellado de los recipientes que contienen la muestra evitará cualquier alteración deliberada del contenido y por otro lado, el etiquetado correcto evitará que las muestras se confundan, las cuales deberán enviarse al laboratorio tan pronto como sea posible.

(Herrera, R., 2007) En el caso de muestras de pastos, éstas se deben conservar eficientemente durante su traslado al laboratorio para evitar cualquier alteración que puedan sufrir. Para ello, se propusieron diferentes métodos como: conservar la muestra en sobres de nailon herméticamente cerrados, colocar la bolsa de nailon en recipientes con hielo, hielo seco e incluso nitrógeno líquido. Todos estos métodos tienen como objetivo conservar la muestra lo más intacta posible, disminuir la actividad enzimática remanente después de cortar la muestra y evitar transformaciones en la composición química. Sin embargo, presentan el inconveniente de necesitar aditamentos y recursos que, en cierta medida, pueden ser caros y dificultar el manejo práctico en el campo, cuando el número de muestras es elevado. Reforzando lo manifestado (Méndez, L., 2020), cita que existen tres clases de cambios en los alimentos con el transcurso del tiempo y estos son:

1. Evaporación o absorción de humedad, evaporación de otros constituyentes volátiles, oxidación debida al aire.
2. Cambios en la composición de las muestras debido a la acción de las enzimas hidrolíticas.
3. Cambios debido a la acción de los microorganismos.



Figura 112. Preparación y conservación de la muestra.

2.6.3 IDENTIFICACIÓN DE LAS MUESTRAS

(Murillo, B., 1994) La identificación apropiada de las muestras es un factor muy importante para los resultados del análisis. La identificación debe ser clara y precisa y contener todos los datos que ayuden a su clasificación. Debe estar visible y escrita de manera legible sobre un material que sea resistente a la humedad. (Nielsen, S., 2010) Las muestras deben

identificarse forma indeleble mediante marcas en el recipiente de la muestra de manera tal que las marcas no se eliminen ni dañen durante almacenamiento y transporte. (Nariño, E., 2017)

La identificación de las muestras deben ser de modo inmediato. En muestras de alimentos se anotará el tipo de muestra, la fecha, el número de lote, el lugar de procedencia y otros datos que puedan ser interesantes en cada caso: temperatura de almacenamiento, método de muestreo, precauciones para el transporte de la muestra, etc. Las anotaciones de identificación deben ser perfectamente legibles sin que haya posibilidad de confusión. (Raposo, C., 2015) Todas las muestras deberán estar identificadas de forma única. Cuando una muestra se fraccione, se identificarán igualmente de forma única cada una de las divisiones, preferiblemente de forma que sea trazable a la muestra original. (Apráez, E., 2020)

Las muestras siempre deben ser etiquetadas, para identificar fácilmente cualquier problema originado con alguna de ellas. La información utilizada para identificar una muestra incluye: a) Descripción de la muestra, b) tiempo en el que fue tomada, c) Lugar de toma, d) persona que la tomó, y, e) Método utilizado para la seleccionar la muestra. Cada muestra debe ser marcada con un código en su etiqueta que se puede correlacionar con el registro de notas. (Serna, S & López, S., 2010); (AGROCALIDAD, 2016); (Méndez, L., 2020). La rotulación debe contener al menos los siguientes datos:

- Producto en elaboración
- Fecha de toma de muestra
- Hora en que se toma la muestra
- Aspecto externo al momento del muestreo
- Mencionar el tratamiento del producto recibido
- Condiciones de transporte y/o almacenamiento (cuando se requieran)
- Otra información que el cliente considere pertinente

(Serna, S & López, S., 2010); (Poddeti, M., 2010) Las muestras deben analizarse lo más rápidamente posible, para evitar alteraciones. En el laboratorio se realizan primero los

análisis físicos y luego los análisis químicos. Recolectar toda la información pertinente sobre el producto y en el reporte de laboratorio se debe declarar esta información:

- a. Nombre del producto.
- b. Número y descripción de la muestra
- c. Muestras enviadas y análisis solicitado.
- d. Fabricante o productor.
- e. Dirección de la fábrica.
- f. Registro sanitario.
- g. Número del lote.
- h. Fecha de fabricación y fecha de vencimiento.
- i. Persona/establecimiento solicitante, razón social, teléfono y localidad.
- j. Lugar día y horario estimado de llegada a destino.
- k. h. Otras observaciones que aparezcan en la etiqueta del producto.

(Apráez, E., 2020) La muestra deberá estar debidamente identificada, en cantidad suficiente para llevar a cabo el análisis y deberá ser empacada de tal manera que evite adulteraciones. La muestra, identificada y marcada, se debe acompañar de la información necesaria para llevar a cabo el análisis; en este se registrarán todas las condiciones en las cuales se recibió la muestra, tales como envases, temperatura, entre otras. La muestra debe ser representativa del producto existente en el lugar de la colecta.

(Greenfield, H., & Southgate, M., 2003), dan a conocer en al tabla 7 una propuesta de registro de muestras de alimentos para la determinación de la composición nutricional



Figura 113. Identificación de las muestras.

Tabla 8. Resumen de las etapas del muestreo y la preparación de las muestras en los estudios sobre composición de alimentos

<i>Términos</i>	<i>Descripción</i>	<i>Principal aplicación en los estudios sobre composición de alimentos</i>
Muestra primaria	Recogida de una o varias unidades tomadas inicialmente del conjunto total del alimento	Punto de partida habitual en los estudios sobre composición. Lo ideal es recoger varias réplicas que se tratan por separado. Las muestras primarias se mezclan con frecuencia para formar una muestra compuesta
Muestra reducida	Parte representativa de la muestra primaria obtenida mediante un proceso de división o reducción	Se utiliza con frecuencia en los estudios sobre composición de alimentos. Las muestras compuestas pueden ser del mismo alimento o una combinación de diferentes marcas o cultivares
Muestra compuesta	Mezcla formada por la combinación de muestras primarias	Se utiliza con frecuencia en los estudios sobre composición de alimentos. Las muestras compuestas pueden ser del mismo alimento o una combinación de diferentes marcas o cultivares
Muestra de laboratorio	Muestra enviada a un laboratorio o recibida por el	La muestra primaria (o una muestra reducida) con frecuencia requiere una manipulación ulterior en el laboratorio (p.ej., descongelación, cocinado, separación del material no comestible). Puede ser necesaria una reducción o mezcla ulterior de la porción comestible
Muestra analítica	Porción preparada a partir de la muestra de laboratorio, de la que se toman las porciones para el análisis	Suele ser la forma en la que se preparan las muestras de alimentos para el análisis
Porción analítica	Cantidad de alimento del peso adecuado para cada medición analítica	El mínimo aceptable es el análisis de porciones analíticas duplicadas; son preferibles varias repeticiones

(Greenfield, H., & Southgate, M., 2003)

2.6.4 ENVÍO DE MUESTRAS

(Raposo, C., 2015) El envío de las muestras al Laboratorio de Análisis Químico será a cargo del solicitante, que podrá realizarlo a través de compañías de transporte fiables o entregándolo personalmente en el propio Laboratorio. El Laboratorio no se responsabilizará

de las posibles pérdidas o retrasos de la muestra. Se recomienda avisar al laboratorio del momento de la llegada de esta, lo que asegurará su perfecta recogida. (Hansen, Ch., 2014) En términos generales, se debe enviar al laboratorio una muestra de un día para otro. Uno de los errores de muestreo más comunes consiste en no hacer llegar rápidamente al laboratorio la muestra. (FAO, 1994) La muestra de laboratorio se debe colocar en un lugar inerte y limpio que ofrezca una protección adecuada contra la contaminación exterior y contra los daños a la muestra en el traslado. A continuación, el envase debe sellarse de tal manera que su apertura no autorizada sea detectable, y enviarse al laboratorio lo antes posible tomando todas las precauciones necesarias contra las fugas o el deterioro. (Greenfield, H., & Southgate, M., 2003), pone a consideración una propuesta de registro de muestras de alimento para envío al laboratorio en el cuadro (8) que detallamos a continuación:

Tabla 9. Propuesta de registro de la muestra de alimento para los estudios sobre composición de alimentos: identificación

<i>Términos</i>	<i>Descripción</i>
Nombre común del alimento	
Número de código de la muestra	
Fecha de recepción en el laboratorio	
Nombres alternativos	Otros nombres comunes (en el idioma del país de origen) y equivalente en inglés cuando sea posible
Nombre científico	Género, especie, variedad
Alimento vegetal	Planta completa o parte de una planta (raíz, tallo, hojas, flores, frutos, semillas)
Alimento animal	Animal completo o una parte (pata, cabeza, órgano interno)
Estado de madurez	Inmaduro, maduro, etc.
Calidad	Cuando proceda
Otros detalles	Cualquier detalle que el recolector considere que puede ser de interés

(Greenfield, H., & Southgate, M., 2003)

CAPÍTULO 3

3 COMPOSICIÓN QUÍMICA

3.1 Introducción

(Serna, S., & López, S., 2010) El punto de partida para el estudio de la ciencia alimentaria está en el conocimiento tanto de los componentes químicos de los alimentos como de las reacciones que conducen a los cambios en la constitución y las características de dichas sustancias.

Los alimentos no son compuestos estáticos, sino dinámicos y consecuentemente las ciencias alimentarias deben estudiar su composición y los efectos que diversos componentes provocan en los procesos a que están sujetos, investigando y descubriendo las conexiones que existen entre la estructura química y sus propiedades organolépticas, así como su capacidad de deterioro en función de su composición química. (Méndez, M., 2020).

Para poder realizar el análisis químico de los alimentos, hay que auxiliarse de una de las más antiguas e importantes ramas de la química: “la química analítica”, la cual brinda las herramientas necesarias para poder determinar quiénes son las sustancias que están presentes en los alimentos y en qué cantidades ellas se encuentran, pues se ocupa de la identificación y cuantificación de componentes. Para complementar cualquiera de estos objetivos (cualitativos o cuantitativos), el procedimiento del cual se vale la química analítica se denomina método analítico.

El método analítico puede definirse como el conjunto de operaciones físicas y químicas que permite identificar y/o cuantificar un componente químico, al cual se denomina “analito” en el sistema material que lo contiene, al cual se le denomina “matriz”. (Campillo, N., 2011)

La técnica analítica es el medio utilizado para llevar a cabo el análisis químico, mientras que el método analítico es un concepto más amplio pues no sólo incluye a la o las técnicas analíticas empleadas en un análisis sino también todas las operaciones implicadas hasta la consecución del resultado final. (Serna, S., & López, S., 2010). El valor nutricional de un alimento depende obviamente de su composición química y está asociado no solo a la cantidad de nutrimentos que posea sino también y sobre todo a la calidad de estos nutrimentos.

No basta con conocer la cantidad de proteínas o grasas presentes en un alimento, sino que también es necesario conocer como estos se metabolizan y la incidencia que los mismos tienen en la salud. Auxiliándose de los métodos químicos es posible no solo determinar la cantidad de proteínas o grasas de un alimento sino también la composición de aminoácidos que poseen las proteínas y la proporción de ácidos grasos presentes en los lípidos.

(De Gracia, M., 2011) la determinación de la composición química de los alimentos se basa en diversos procesos químicos que tienen como finalidad determinar cuantitativamente la presencia de determinado elemento, compuesto o fracción de la estructura del material, es así que el análisis del alimento nos sirve de guía para determinar el nivel de incorporación de un alimento en la formulación de raciones para cada especie, y conocer cuáles son los aportes en términos de nutrimentos y como poder complementarlos con otra fuente, ya sea natural o artificial. Los análisis de laboratorio son requeridos como un medio rápido y económico para el control de calidad de alimentos y predecir la respuesta animal en diferentes situaciones de alimentación.

(Nielsen, S., 2010) El análisis químico de los alimentos es una parte importante de un programa de aseguramiento de la calidad en el procesamiento de alimentos, desde ingredientes y materias primas, hasta a los productos terminados. Además también es importante en la formulación y desarrollo de nuevos productos, evaluando nuevos procesos para la elaboración de alimento. Para cada tipo de producto que tiene que ser analizado, puede ser necesario determinar uno o varios componentes. La naturaleza de la muestra y la forma en que se obtuvo la información se utilizarán para determinar las condiciones específicas del método de análisis. **(Méndez, M., 2020)** Hoy en día, ningún producto sale al mercado sin antes ser sometido a un riguroso control de calidad que garantice su aceptación para ser comercializado.

En los alimentos el control de calidad constituye una etapa más del proceso productivo y adquiere una particular importancia por la relación existente entre la alimentación y la salud. Por otra parte, el control de calidad en la industria de los alimentos permite encontrar las fallas y los errores en el proceso de fabricación y en lo que respecta a las materias primas, almacenamiento, transporte, etc., proponiendo medidas eficaces para disminuir o eliminar estos errores.

(Serna, S., & López, S., 2010) La caracterización de los alimentos proviene de los resultados de los diferentes ensayos a que puede someterse utilizando diferentes métodos de evaluación, los cuales pueden agruparse en función de los objetivos que persigan y los principios en que se fundamentan. Así, la evaluación de los alimentos involucra tres tipos de análisis: análisis físico químico, análisis microbiológico y análisis sensorial.

El valor nutricional de un alimento depende obviamente de su composición química y está asociado no solo a la cantidad de nutrimentos que posea sino también de la calidad de estos nutrientes, es decir no basta con conocer la cantidad de proteínas o grasas presentes en un alimento, sino también su composición tanto de nitrógeno proteico (NP) como no proteico (NNP) y la proporción de ácidos grasos u otros compuestos solubles en solventes orgánicos que también se encuentran presentes en los lípidos, considerando la diversidad de fuentes alimenticias se los puede clasificar como se muestra a continuación en la gráfica

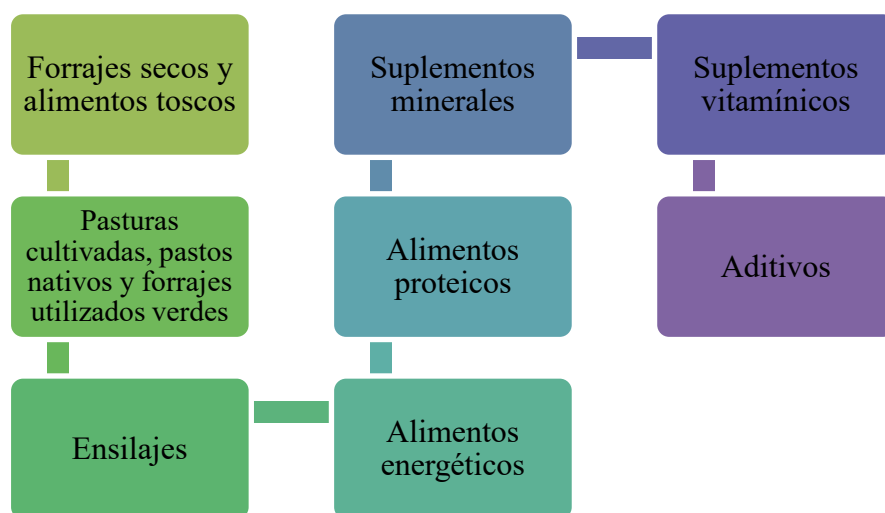


Figura 114. Clasificación de fuentes alimenticias

3.2 Calidad en los análisis químicos.

(Vinagre, J., 1997) Los métodos analíticos que se apliquen para producir datos de composición química de alimentos deben ser apropiados, utilizar técnicas analíticas exactas y ser realizados por analistas entrenados. En la elección de un método se debe focalizar la atención en los principios analíticos involucrados, más que en el grado de sofisticación del instrumento. Muchas veces un método que emplea instrumentos modernos puede producir

valores menos confiables que el método tradicional que pretende reemplazar y por tanto es preferible desarrollar programas que aseguren la calidad de los datos obtenidos

Las consideraciones que se debe tener en cuenta para elegir criterios en la elección de los métodos analíticos son:

- a) Dar preferencia a métodos cuya calidad y confianza se ha establecido en estudios colaborativos, o similares en varios laboratorios
- b) Preferir métodos documentados o adoptados por organizaciones internacionales reconocidas
- c) Preferir métodos de análisis que se aplican en forma uniforme a varios tipos de alimentos sobre aquellos que se aplican a alimentos específicos.

Para **(Palacios, M., 2018)** La calidad se define como “la totalidad de las características de una entidad que le confieren la aptitud para satisfacer las necesidades establecidas e implícitas” o “el grado en el cual un conjunto de características inherentes de un objeto cumple con los requisitos. Estas definiciones de calidad se ajustan al concepto de calidad en un laboratorio, en el que el producto son los resultados y la información obtenida, que en muchas ocasiones deben satisfacer unas necesidades o requisitos preestablecidos. La calidad y la química analítica, por tanto, están estrechamente relacionadas.

Dentro del concepto de calidad se encuentran tanto los resultados los procesos analíticos, la calidad del trabajo de su organización y de las herramientas analíticas, se requiere que lleven a cabo una serie de acciones antes, durante y después del proceso analítico. **(Balthrop, J., et. al. 2011)**

La calidad no es fácil de definir, puede tener un significado diferente para cada persona en particular, entonces se la define como: el grado en el que un conjunto de características inherentes cumple los requisitos, esto indica claramente que lograr calidad significa cumplir con los requisitos; estos pueden provenir de los clientes y, en algunos casos, de las autoridades reguladoras.

(Castillo, B., & González, R.,1996) Para asegurar la confiabilidad en el análisis químico, los métodos se someten a un proceso de validación, sea de carácter prospectivo, retrospectivo o de revalidación, se comprueba si el método es lo suficientemente confiable y si los resultados previstos se obtienen dentro de las condiciones establecidas.

3.3 CLASIFICACIÓN DE LOS MÉTODOS DE ANÁLISIS

(Serna, S., & López, S., 2010); (Zumbado, H., 2004) Se divide en dos grandes campos de actuación: el análisis cualitativo, cuyo objeto es identificar cuáles son los componentes que están presentes en una muestra, y el análisis cuantitativo, a través del cual se determina cuánto hay de cada componente en la muestra evaluada.

Para complementar cualquiera de estos objetivos (cualitativos o cuantitativos), el procedimiento del cual se vale la química analítica se denomina método analítico que puede definirse como el conjunto de operaciones físicas y químicas que permite identificar y/o cuantificar un componente químico, al cual se denomina “analito” en el sistema material que lo contiene, al cual se le denomina “matriz”.

Para llevar a cabo un análisis cuantitativo hay que llevar a cabo dos mediciones: La primera medida es el peso o volumen de la muestra bajo análisis. La segunda medida es una cantidad que es proporcional a la cantidad de analito presente en la muestra. (Méndez, M., 2020). Atendiendo a las características del procedimiento analítico y del principio general en el cual se fundamenta la determinación, los métodos de análisis químico pueden clasificarse en dos grandes grupos: métodos clásicos y métodos instrumentales.

(Zumbado, H., 2004) ;(Serna, S., & López, S., 2010) La caracterización de los alimentos proviene de los resultados de los diferentes ensayos a que puede someterse utilizando diferentes métodos de evaluación, los cuales pueden agruparse en función de los objetivos que persigan y los principios en que se fundamentan. Así, la evaluación de los alimentos involucra tres tipos de análisis:

- Análisis físico-químico
- Análisis microbiológico
- Análisis sensorial.

3.3.1 ANÁLISIS FÍSICO-QUÍMICO:

Implica la caracterización de los alimentos empleando ensayos que miden características físico-químicas, haciendo énfasis en la determinación de su composición química, es decir, cuales sustancias están presentes en un alimento (proteínas, grasas, vitaminas, minerales, hidratos de carbono, contaminantes metálicos, residuos de plaguicidas, toxinas,

antioxidantes, entre otros) y en las cantidades que estos compuestos se encuentran. Es decir, caracterización de un alimento desde el punto de vista nutricional y toxicológico.

3.3.2 ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO:

Al considerar a los alimentos como sistemas complejos de gran riqueza nutritiva y por tanto sensibles al ataque y posterior desarrollo de microorganismos (bacterias, hongos y levaduras). En todos los alimentos hay siempre una determinada carga microbiana, pero esta debe ser controlada y no debe sobrepasar ciertos límites, a partir de los cuales comienza a producirse el deterioro del producto con la consecuente pérdida de su calidad y aptitud para el consumo.

3.3.3 ANÁLISIS SENSORIAL:

Constituye una disciplina científica que permite evaluar, medir, analizar e interpretar las características sensoriales de un alimento (color, olor, sabor y textura) mediante uno o más órganos de los sentidos humanos.

De manera sintetizada (**Méndez, M., 2020**) acerca de los métodos de análisis son los que se detalla a continuación:

3.4 METODOS DE ANÁLISIS

Métodos químicos clásicos: Son los métodos más antiguos e involucran generalmente la aplicación de una reacción química en la que interviene el constituyente que se desea determinar, pueden clasificarse en:

- Métodos de análisis gravimétrico: Se fundamentan en el hecho de que la determinación del analito se alcanza midiendo directa o indirectamente su masa.
- Métodos de análisis volumétrico: Los cuales se basan en la medida exacta del volumen de una solución que contiene suficiente reactivo para reaccionar completamente con el analito.

Métodos instrumentales: Constituyen un conjunto de procedimientos basados en la medición instrumental de alguna propiedad físico-química del sistema estudiado.

- a. Los métodos electroanalíticos conllevan la medida de alguna propiedad eléctrica como potencial, intensidad de corriente, resistencia o cantidad de electricidad.

- b. Los métodos espectrofotométricos se basan en la medida de alguna propiedad de la radiación electromagnética tras la interacción con los átomos o moléculas de analito; o bien la producción de radiación electromagnética a partir del analito cuando la materia ha sido sometida a algún tipo de excitación.
- c. Existe un grupo misceláneo de métodos que implican la medida de la relación carga-masa, velocidad de desintegración radioactiva, calor de reacción, conductividad térmica, actividad óptica o índice de refracción.

(Zumbado, H., 2004), atendiendo al procedimiento empleado para realizar la separación del componente que se desea cuantificar, los métodos de análisis gravimétrico se pueden clasificar en tres grandes grupos: métodos gravimétricos por volatilización o destilación, métodos gravimétricos por extracción y métodos gravimétricos por precipitación.

De lo indicado por (Campillo, N., 2011), en la clasificación de los métodos de análisis, complementa que para llevar adelante un análisis cuantitativo hay que llevar a cabo dos mediciones:

1. La primera medida es el peso o volumen de la muestra bajo análisis.
2. La segunda medida es una cantidad que es proporcional a la cantidad de analito presente en la muestra.

En los métodos clásicos o químicos, para el método gravimétricos se determina la masa de analito o de algún compuesto relacionado químicamente con él, mientras que para el volumétrico se mide el volumen de una disolución de concentración conocida que contiene la cantidad de reactivo.

(Serna, S., & López, S., 2010). A pesar de que estos métodos son los más antiguos, debe señalarse que hoy en día conservan su vigencia y específicamente en el campo del análisis de los alimentos poseen una enorme aplicación para la cuantificación de una amplia gama de compuestos de gran importancia nutricional. Muchos de los métodos clásicos sirven, incluso, como punto de comparación para determinar la utilidad de un nuevo método.

3.5 VALIDACIÓN DE MÉTODOS

(Aguilar, B., & Gonzáles, R., 1996) Para asegurar confiabilidad, los métodos analíticos se someten a un proceso de validación, ya sea de carácter prospectivo, retrospectivo o de

revalidación, se comprueba si el método es lo suficientemente confiable y si los resultados previstos se obtienen dentro de las condiciones prefijadas. **(Méndez, M., 2020)** El término está directamente relacionado con la palabra calidad.

La validación del método analítico es el proceso que permite establecer qué características del funcionamiento del método analítico son adecuadas para la aplicación que se pretende. **(Duffau, B., et. al. 2010)**. no es otra cosa que la verificación de determinados parámetros de un método en la que los requisitos especificados para estos demuestran que el mismo es idóneo para un uso previsto. La validación de un método analítico es un paso fundamental para asegurar que los resultados entregados por dicho método son confiables. Cuando se realiza la validación de un método por parte del laboratorio, lo que se busca es poder determinar con fundamento estadístico que el método es adecuado para los fines previstos. **(Vinagre J., 1997)** Aún los métodos bien establecidos necesitan evaluarse por los analistas usando el personal, reactivos y equipos del laboratorio cuyo método se quiere validar, puede hacerse analizando un conjunto de muestras con resultados obtenidos por otro método o por otro laboratorio.

El analista debe familiarizarse con un método y asegurarse que ha alcanzado el grado deseado de recuperación y un conjunto de blanco y muestras precisión después de haber analizado analíticas sintéticas o fortificadas. Por lo anteriormente expuesto **(Serna, S., & López, S., 2010)**, da a conocer que el objetivo principal de la validación analítica es el de asegurar que un procedimiento analítico dará resultados reproducibles y confiables que sean adecuados para el propósito previsto.

(Zumbado, H., 2004) Los requisitos o criterios de validación que debe cumplir un método analítico y que deben ser determinados en el procedimiento de validación, según lo estipulado por diferentes organizaciones internacionales son los siguientes:

1. Exactitud
 - a. Precisión
 - b. Veracidad o Justeza
2. Selectividad
3. Linealidad
4. Sensibilidad de calibrado
5. Límite de detección y límite de cuantificación

6. Tolerancia o fortaleza

7. Robustez

3.5.1 EXACTITUD Y MUESTRAS DE REFERENCIA

Tabla 10. Organizaciones que proporcionan muestras de referencia y pruebas de aptitud de alimentos para animales.

Organización	Descripción	Origen	Correo Electrónico	Sitio Web
AAFCO (Association of American I Feed Control Officials)	Es una organización que guía a los reguladores de alimentos estatales, federales e internacionales con definiciones de ingredientes, estándares de etiquetas y de laboratorio durante más de 110 años. (AAFCO, 2023)	Estados Unidos	aafco@aafco.org	https://www.aafco.org/
BIPEA (Bureau InterProfessionnel d'Etude Analytique)	Implementa programas de pruebas de competencia en los campos de agroalimentación y contaminantes. (BIPEA, 2023)	Francia	contact@bipea.org	https://www.bipea.org/es/
FAPAS (Food Analysis Performance Assessment Scheme)	Proveedor de pruebas de competencia acreditado de renombre mundial que apoya a las industrias de pruebas de agua y alimentos desde 1990. (FAPAS, 2023)	Reino Unido	info@fera.co.uk	https://fapas.com/
LGC (Laboratory of the government Chemist)	Es una empresa líder mundial en herramientas de ciencias de la vida, que proporciona componentes y soluciones de misión crítica en áreas de aplicación de alto crecimiento en los segmentos de mercado aplicado y de atención médica humana. (LGC, 2023)	Reino Unido	info@lgcgroup.com	https://www.lgcgroup.com/
WEPAL (Wageningen Evaluation Programmers for Analytical Laboratories)	Organiza ensayos de aptitud en el ámbito terrestre. (WEPAL, 2023)	Países Bajos	wepalquasime@wur.nl	https://www.wepal.nl/en/wepal.htm

(Balthrop et al., 2011)

(Balthrop, J., et. al., 2011), Para asegurar la calidad en el laboratorio, y garantizar la precisión del procedimiento, se debe analizar una muestra de referencia (estándar de trabajo) con valores conocidos y estables. Este material de referencia puede obtenerse de

organizaciones para pruebas de aptitud de alimentos para animales (**Tabla 10**) donde los valores de referencia son determinados por varios laboratorios que aplican varios métodos de prueba validados independientemente. Un laboratorio también puede hacer su propia muestra de referencia. Se debe elegir un material de alimentación que sea representativo entre la mayor parte de las muestras de alimento analizadas en el laboratorio. Esta muestra debe analizarse por duplicado, al menos en 6 corridas diferentes, repartidas en varios días / semanas. Además, se debe participar en programas de prueba de aptitud que permite evaluar la exactitud y precisión del laboratorio. Siempre que sea posible, las matrices y pruebas del programa deben coincidir con las de los laboratorios

(**Gorrachategui, M., 2009**) También pone a consideración en la siguiente tabla algunos organismos que desarrollan y publican métodos de análisis oficiales de referencia.

Tabla 11. Organismos que desarrollan y publican métodos de análisis oficiales de referencia

Organismo	Sigla
National Institute of Standards and Technology	NIST
U.S. Environmental Protection Agency	USEPA
International (Association of Official Analytical Chemists	AOAC
International Union Of Pure and Applied Chemistry	IUPAC
American Association of Cereal Chemists	AACC
American Oil Chemist's Society	AOCS
Analytical Methods Committee, Royal Society of Chemistry	AMS-RSC
International Organization of Standardization	ISO
American Society for Testing and Materials	ASTM
International Association for Cereal Science and Technology	ICC
Ministry of Agriculture, Fisheries and Food	MAFF
Normas	AFNOR
Normas Españolas	UNE

A continuación se sintetizan algunos de los organismos responsables de la regulación de normas de análisis

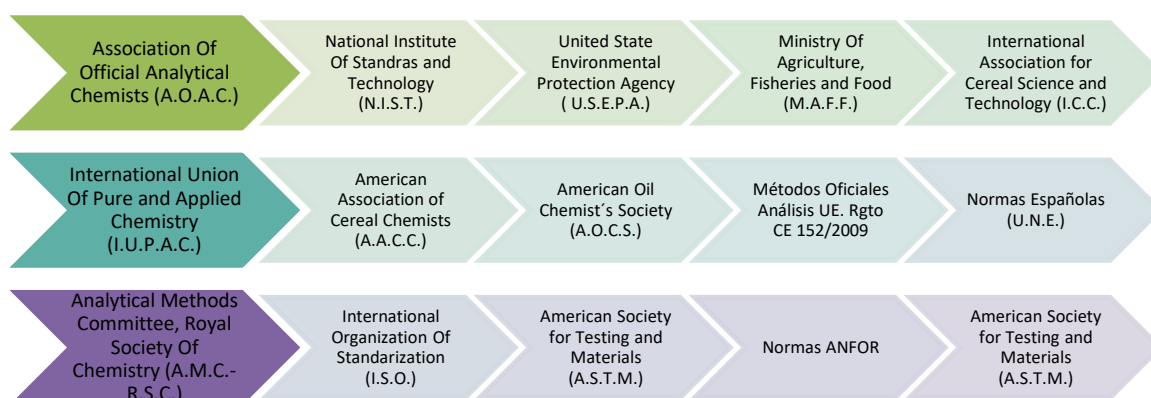


Figura 115. Organismos y entidades que regulan o proponen métodos analíticos internacionales

3.6 TABLAS DE COMPOSICIÓN DE LOS ALIMENTOS

(Greenfiels, H., & Southgate, D., 2003) Las primeras tablas de composición de alimentos se basaban en análisis llevados a cabo en los laboratorios de investigadores como Von Voit en Alemania, Atwater en los Estados Unidos de América y Plimmer en el Reino Unido. Se estableció una distinción entre estos sistemas, a los que denominó respectivamente método directo e indirecto de compilación de tablas

Método directo La ventaja del método directo, en el que todos los valores son el resultado de análisis llevados a cabo expresamente para la base de datos que se está compilando, es que el estrecho control de los procedimientos de muestreo, análisis y control de calidad permite obtener datos muy fidedignos, sin embargo, este procedimiento del método directo sigue siendo costoso y prolongado y ejerce presión sobre los recursos analíticos disponibles en muchas partes del mundo.

Método indirecto. Se utilizan datos tomados de la bibliografía publicada o de informes de laboratorio inéditos. Por consiguiente, hay menos control sobre la calidad de los datos, que pueden ser desiguales. Hay que tener, cuidado a la hora de evaluarlos para su inclusión en la

base de datos, en algunos casos estos valores tienen un grado menor de confianza. El método indirecto se utiliza casi siempre cuando los recursos analíticos son limitados o el suministro de alimentos procede en gran parte de productos alimenticios importados de otros países cuyos datos sobre la composición están disponibles.

Solamente se pueden obtener datos fidedignos sobre la composición de nutrientes de los alimentos mediante la aplicación cuidadosa de métodos de análisis exactos que sean apropiados en manos de analistas capacitados. La elección de los métodos apropiados llevada a cabo en el marco de planes de garantía de la calidad es el segundo elemento fundamental para asegurar la calidad de los valores en una base de datos de composición de alimentos.

3.6.1 ANALÍS PROXIMAL, ESQUEMA DE WEENDE O ANÁLISIS INMEDIATO DE LOS ALIMENTOS

(Tejada, I., et. al., 1972); (Murillo, B., 1994) El análisis de los alimentos ha sido practicado por el hombre desde tiempos inmemoriales, los que podrían llamarse análisis organolépticos. Posteriormente los hebreos, cristianos y mahometanos introdujeron reglas con respecto al consumo de ciertos alimentos, basados la principalmente en la experimentación con ellos. El análisis cuantitativo de los de un alimento, sin embargo, probablemente se inició en 1775, en Inglaterra, cuando Pearson determinó las proporciones de almidón, agua, materia fibrosa, materia extractiva y cenizas en las papas, reconoció también la presencia de grasas, ácidos y azúcares.

Entre 1840 y 1865 diferentes investigadores iniciaron los primeros estudios sistemáticos de alimentos para humanos y animales y por métodos más o menos similares a los empleados actualmente. Un gran avance tuvo lugar en 1859-1861. **(Greenfiels, H., & Southgate, D., 2003)** El sistema proximal para el análisis ordinario de los piensos se diseñó a mediados del siglo XIX, entre 1860 - 1864). Se creó para obtener una clasificación muy amplia y con un nivel máximo de los componentes de alimentos. Para **(Dieter, H., 1998); (De Gracia, M., 2011)**, este análisis fue desarrollado en el siglo pasado por los doctores Henneberg y Stohmann en la estación experimental Göttingen Weende (de ahí su nombre) en Alemania, y hasta hoy en día sigue siendo la metodología estándar para la evaluación de alimentos para animales. **(Apráez, E., 2020)**

Podría decirse que el análisis proximal determina la composición de un alimento en función de grupos de compuestos con características físico químicas semejantes, pero con diferente valor nutritivo y, a pesar de sus limitaciones el análisis proximal ha sido por más de un siglo el punto de partida en la evaluación de un alimento y aunque los métodos de análisis hayan cambiado, el fundamento permanece intacto. **(Dieter, H., 1998)**

El análisis proximal no está dirigido hacia la determinación de nutrientes específicos y exactamente definidos en términos químicos, sino hacia una calificación gruesa de nutrientes brutos. **(Méndez, M., 2020)** Este sistema es un análisis de tipo preliminar en el cual no se pretende determinar en detalle la complicada composición de los alimentos de forma completa, ya que esto caería dentro del campo más especializado de la bromatología. Ordinariamente este análisis se refiere a unas pocas determinaciones convencionales afines, las cuales sirven para calificar su valor como una primera aproximación, desde el punto de vista nutricional, de una determinada dieta o alimento. **(Tejada, I., et. al., 192)**, indica que los constituyentes del análisis próximo son:

1. Humedad
2. Cenizas
3. Determinación de proteína
4. Determinación de Grasa
5. Determinación de fibra bruta.
6. Extracto libre de Nitrógeno)

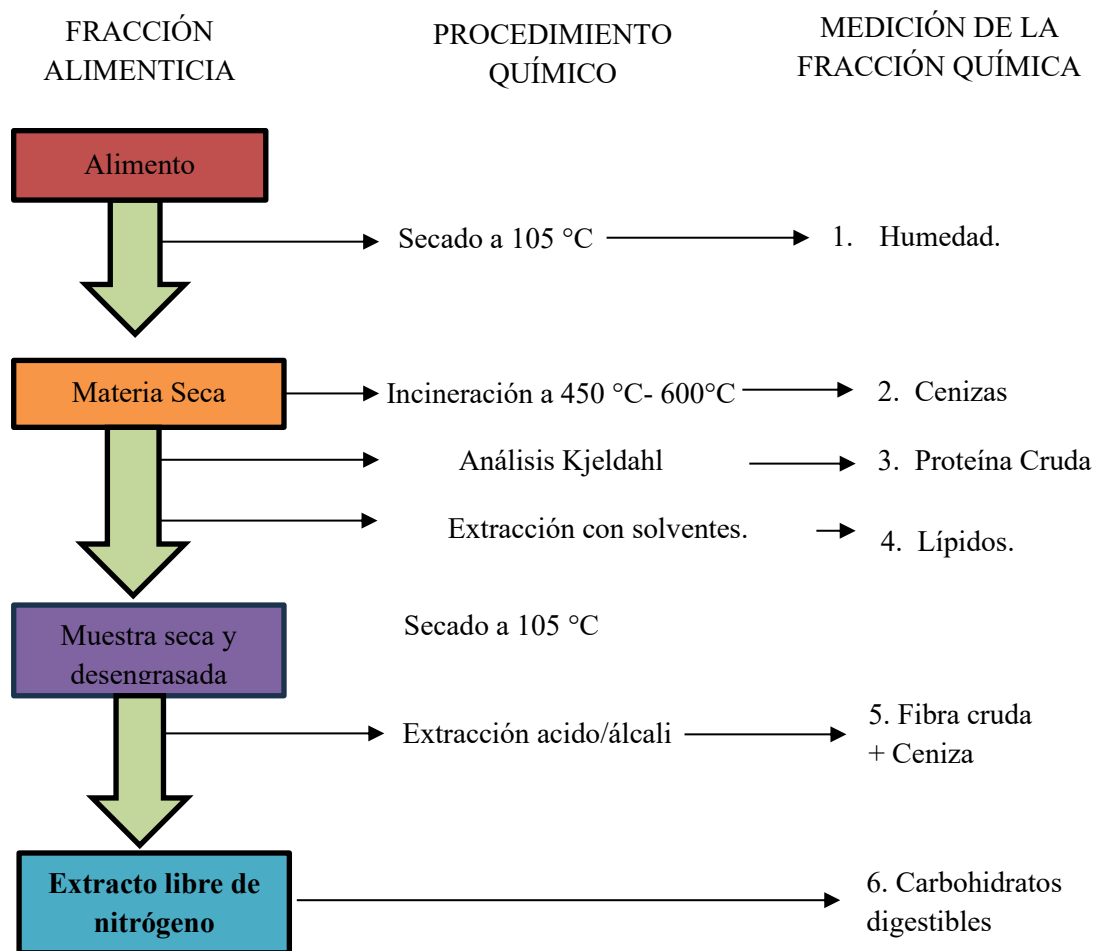


Figura 116. Procedimiento de análisis proximal de alimentos.

Para (Apráez, E., 2020), El análisis proximal, fue creado principalmente para identificar los carbohidratos, los cuales clasifica en dos grandes grupos: fibra cruda y extracto libre de nitrógeno (ELN). El ELN se cuantifica por la diferencia de 100 menos los otros componentes y no por un método de análisis específico, lo que puede resultar en un error acumulado de las anteriores determinaciones. (Greenfiels, H., & Southgate, D., 2003) El extracto libre de nitrógeno (ELN), representa más o menos los azúcares y almidones, De acuerdo con (Nielsen, S., 2010) a este conjunto de constituyentes del análisis proximal, cenizas, pero especialmente sus principales componentes químicos, lípidos, proteínas y carbohidratos, se les conoce también como metabolitos primarios o matriz, en donde el rendimiento de los métodos analíticos se ven afectados por los metabolitos primarios y en el análisis de alimentos, suele ser esta matriz alimentaria (metabolitos primarios), que presenta el mayor

desafío al analista, por ejemplo, alimentos con alto contenido en grasas o con alto contenido de azúcar pueden causar diferentes tipos de interferencias en el análisis de los alimentos con bajos contenidos en grasas o azúcares.

Entonces los resultados analíticos dependen mucho del tipo de alimento y su matriz de composición nutricional, en donde la complejidad de los diversos sistemas alimentarios a menudo requiere tener no sólo una técnica disponible para un componente alimentario específico, sino múltiples técnicas y procedimientos, así como el conocimiento sobre el cual aplicar a una matriz alimentaria específica. **(Murillo, B., 1994)**, en la aplicación de los métodos para el análisis próximo debe tenerse cuidado en seguir el método lo más fielmente que se pueda a lo sugerido, ya que algunos de ellos, como la fibra cruda, son empíricos y cualquier cambio en la concentración de los reactivos o en el tiempo de digestión, va a alterar los resultados. **(Tejada, I., et. al., 1972)**

Limitaciones del análisis proximal: no señala si el alimento contiene o no sustancias nocivas para el animal o distingue la calidad de la proteína que contiene. Tampoco indica cuál es su contenido en vitaminas, o cuál es la composición de la materia mineral, la disponibilidad de los elementos que contiene, etc. De ahí que **(Murillo, B., 1994)**, define el análisis próximo como un "esquema de análisis químico mediante el cual se determina la composición de un alimento en término de sus principales grupos de nutrientes". **(Greenfiels, H., & Southgate, D., 2003)**

Muchas personas consideran que el término «proximal» y el concepto al que denomina son útiles para representar los componentes principales que forman los alimentos; los métodos analíticos reales se independizan posteriormente. Otros opinan que la definición de «proximal» se basa en los métodos originales prescritos por Henneberg y Stohmann y que la sustitución de dichos métodos, por ejemplo, la fibra dietética en lugar de la fibra bruta, invalida la utilización del término. Aunque algunos de los métodos utilizados tradicionalmente en el sistema proximal de análisis no se recomiendan para la preparación de bases de datos de composición de alimentos (por ejemplo, la fibra bruta), es conveniente examinar los conceptos aplicados, puesto que son los que han predominado en las opiniones sobre la composición de alimentos y su análisis. Este sistema se creó en un momento en el que sólo se conocía en parte la química de la mayoría de los componentes de los alimentos. El desarrollo de las ciencias de la nutrición ha demostrado que para los estudios nutricionales

se necesita un enfoque más detallado y con una orientación más bioquímica con respecto al análisis de los alimentos.

3.7 PROCEDIMIENTOS ANALÍTICOS DEL ANÁLISIS PROXIMAL

3.7.1 DETERMINACIÓN DE LA HUMEDAD O MATERIA SECA

(Maurelli, J., 2017). La humedad indica el contenido de agua de un alimento. El peso de un alimento tiene poco significado si no se toma en consideración el contenido de agua. Lo que queda después de extraer el agua es la materia seca (MS), un factor importante que determina el grado de conservación de un alimento desecado. (Zumbado, H., 2004) La determinación de humedad es una de las técnicas más importantes y de mayor uso en el procesamiento, control y conservación de los alimentos, puesto que la mayoría de los productos alimenticios poseen un contenido mayoritario de agua, así, por ejemplo, la leche posee un 88%, y aún los llamados productos secos como las leguminosas o el polvillo de arroz, alcanzan un contenido de humedad de hasta 12%. El contenido de agua en los alimentos varía en un amplio rango y no constituye un parámetro constante, muchas ocasiones conviene expresar la concentración de un determinado componente de un alimento en base seca para lo cual es imprescindible conocer su contenido de agua. Otras veces se requiere realizar el cálculo inverso, es decir, la técnica de determinación exige un previo secado del producto (matriz) pero los resultados deben expresarse en base húmeda puesto que los valores de referencia, con los cuales debe compararse el resultado analítico en cuestión, están expresados en base húmeda.

En consecuencia (Masson, L., 1997), indica que es la base de referencia que permite: comparar valores; convertir a valores de humedad tipo; expresar en base seca y expresar en base tal como se recibió. (Cabrera, A., 2014); (García E., & Fernández, I., 2012) siendo la determinación de humedad el análisis más importante llevado a cabo en un producto alimentario, podemos señalar que todos los alimentos contienen agua, las cifras del contenido en agua varían entre 60 y 95% en los alimentos naturales. El agua existe en dos formas generales: “agua libre” y “agua ligada”.

El agua libre o absorbida, que es la forma predominante se libera con facilidad y es liberada con facilidad por evaporación o por secado y es estimada en la mayor parte de los métodos usados para el cálculo del contenido de agua. El agua ligada se encuentra en los alimentos con agua de cristalización (hidrato) o ligada en alguna forma química a las proteínas y a las moléculas de sacáridos y adsorbida en la superficie de las partículas coloidales. Parte de esta permanece ligada al alimento incluso a la temperatura que lo carboniza. Por su parte **(Nielsen S., 2010)**, menciona que los tres estados del agua en los productos alimenticios son:

1. Agua libre: Esta agua conserva sus propiedades físicas y por lo tanto actúa como agente dispersante para coloides y el disolvente de las sales.
2. Agua adsorbida: esta agua se retiene firmemente o está ocluida en las paredes celulares o el protoplasma y se adhiere firmemente a las proteínas.
3. Agua de hidratación: Esta agua está unida químicamente, por ejemplo, a la lactosa monohidrato; también algunas sales como $\text{Na}_2\text{SO}_4 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$

(Caravaca, F., 2006). El agua es el elemento fundamental para el desarrollo de la vida. Forma aproximadamente el 60% de la materia viva animal y el 75% de la materia viva vegetal. Por tanto, es el componente estructural básico de la materia viva, ya que la mayor proporción de contenido celular es agua. No aporta ningún elemento nutritivo como tal en cuanto a energía o proteína, pero va a estar presente en todos los alimentos. Siempre se va a tener muy en cuenta el contenido en agua de un alimento, para su conservación y para la determinación de su valor nutritivo. Además, es un criterio que se va a utilizar para la clasificación de los alimentos.

El agua es imprescindible para todos los procesos y reacciones químicas que se realizan dentro de la célula, así como componente estructural de las mismas, para la eliminación de sustancias de desecho y para la regulación de la temperatura. **(Gaggiotti, M., 2008)** El contenido de agua de los alimentos para consumo animal, está sujeto a un amplio rango de variación. Puede oscilar desde un 8 % o menos en los alimentos secos (granos y rastrojos) hasta un 80-90 % en los alimentos succulentos (forrajes muy tiernos, raíces y tubérculos). El agua contenida en las plantas en crecimiento está en relación con el grado de desarrollo, siendo mayor en plantas jóvenes que en las de mayor edad.

La proporción de agua de las pasturas es de aproximadamente 90 % a comienzos de primavera y de 65 % en verano, de manera que, la densidad de nutrientes se ve aún más

disminuida en primavera que en verano. En las dietas basadas principalmente en pasturas, la presencia de agua diluye en forma marcada la concentración de nutrientes. Por otra parte, es importante destacar que el agua en las pasturas es predominantemente intracelular, contribuyendo al volumen de la dieta. **(De Gracia, M., 2011)** En los subproductos agroindustriales, de acuerdo con el procesamiento al cual son sometidos los materiales, la pérdida de agua varía de acuerdo con el método de extracción o secado.

Igual sucede con el almacenamiento de granos, que, aunque se estandarizan, no todo el tiempo poseen el mismo grado de humedad. Según **(Reyes, N., & Mendieta, B., 2000)** Todos los alimentos contienen agua, desde fracciones del 1% hasta cantidades superiores al 90%. Entre los alimentos, de más bajo contenido de agua se encuentran la roca fosfórica y la concha de ostión; las grasas animales, los aceites vegetales, los granos de cereales y los henos tienen un contenido de humedad que no rebasa el 25%; los ensilajes contienen alrededor: de 60 - 70%, los forrajes frescos entre 70 y 85%, los alimentos con mayor contenido de humedad son la leche con 88% y el suero de leche con 91%. **(Dieter, H., 1998)** Como el contenido de agua varía ampliamente en los alimentos, generalmente **(González, C., 2017)**, la composición nutricional de estos es comúnmente expresada como porcentaje de materia seca (%MS) en lugar de porcentaje del alimento fresco (% "como alimentado") porque:

La cantidad de agua en los alimentos es muy variable y el valor nutritivo es más fácilmente comparado cuando se expresa en base a materia seca. Además, la concentración de nutriente en el alimento puede ser directamente comparada a la concentración requerida en la dieta. **(McDonald, E., et. al., 1995)**, lo que permite realizar comparaciones válidas de los contenidos de nutrientes en los alimentos. **(Reyes, N., & Mendieta B., 2000)**. La importancia de conocer el contenido de humedad o materia seca de los alimentos radica en que, el valor nutritivo de un alimento está en razón inversa a su contenido de humedad. Por otro lado, el elevado contenido de agua en los alimentos no permite, que estos se almacenen en buen estado, y puesto que prosiguen los procesos enzimáticos se crea el medio adecuado para el desarrollo y proliferación de microorganismos que provocan la alteración de los nutrientes que contienen los alimentos y pueden producir metabolitos tóxicos como las aflatoxinas y de acuerdo con **(Serna, S., & López, S., 2010); (Méndez, M., 2020)**, además afectan su aspecto, olor y textura

(Nielsen S., 2010) Dependiendo de la forma del agua presente en un alimento, el método utilizado para determinar la humedad utiliza métodos oficiales con un procedimiento establecido. Los métodos internacionales incluyen: estufas, método de estufa al vacío; estufa de aire forzado, horno microondas, destilación. Generalmente, el que se prefiere es el primer método listado por AOAC International. **(De Gracia, M., 2011).**

Fuentes de error son el hecho de que cualquier material que se volatiliza a esta temperatura se pierde (ensilajes u otros productos fermentados). Algunos líquidos se oxidan cuando se calientan y por consiguiente aumentan de peso. **(Morón C., et. al., 1997)** Otros métodos a ser utilizados son: Método de Karl Fisher cuyo uso restrictivo es el costo del equipo, método NMR de igual manera el costo del equipo y necesita calibración, método de Liofilización con la limitante que permanece agua residual y el costo del equipo. **(Zumbado H., 2004)**

En la actualidad existen equipos que determinan de forma automática el contenido de humedad en un gran número de alimentos. Sin embargo, no permiten obtener resultados confiables con estos equipos para todos los tipos de alimentos. No obstante, debe señalarse que existen algunos equipos especialmente contruidos para el análisis de la humedad en algunos tipos de alimentos. Tal es el caso del medidor GMK-303 / GMK-303RS, el cual se usa para medir el contenido de humedad en granos como arroz, soja, cebada, trigo y cereales. por medio del método de resistencia electrónica y con microprocesador incorporad. De cualquier manera, en la práctica investigativa de hoy en día, se sigue considerando la determinación de humedad por vía indirecta (dsecación en estufa), como el método más confiable y universal.

(McDonald, E., et. al., 1995). El contenido total de agua de los alimentos se determina a partir de la de la pérdida de peso que experimenta una cantidad conocida de alimento hasta peso constante, por dsecación **(Reyes, N., & Mendieta, B., 2000)** a temperaturas entre 100 a 105 °C., **(Tacón, A., 1989)** a 105°C, **(Shimada, A., 2007)** a 100 - 110° C. por varias horas con el objeto de determinar su humedad (su complemento, la materia seca, se calcula por diferencia de 100). El contenido de materia seca en muestras de alimentos y otros materiales (heces) según **(Salcedo, J., 2012)** es expresado en tres formas: Como alimento, parcialmente seco y seco. Las definiciones de estos términos son:

- **Como alimento:** se refiere al alimento tal como es consumido por el animal, o como se recibió en el laboratorio, fresco, verde húmedo

- **Parcialmente seco:** Se refiere a una muestra que ha sido secada al sol o en un horno (estufa, usualmente con aire forzado), comúnmente a una temperatura de 65° C., o secada por congelación y equilibrada con el aire; la muestra después de esos procesos contendrá usualmente más del 88% de materia seca (12% de humedad); algunos materiales son preparados en esta forma y así ellos pueden ser analizados y almacenados. Este análisis es reconocido como “porcentaje de materia seca parcial de una muestra de alimento”. Término similar secado al aire
- **Seco:** Se refiere a una muestra de material que ha sido secada a 105° C., hasta que toda la humedad ha sido eliminada. Términos similares, 100% de materia seca; libre de humedad. Si la materia seca es determinada Si la materia seca es determinada (en un horno a 105°C) a una muestra “como alimento”, se reconoce como “materia seca de una muestra como alimento”. Si la materia seca se determina en una muestra parcialmente seca, ésta es reconocida como “materia seca de una muestra parcialmente seca”.

(Apraez, E., 2020) complementando esta idea del contenido de materia seca en muestras de alimentos y otros materiales indica que debido a que la mayoría de los estudiantes suelen tener dificultad con los cambios de base, para expresar la concentración de nutrientes en una base determinada, es necesario conocer la terminología empleada en su obtención, por ello a continuación se explican cada una de ellas.

- **Base Fresca (BF)** = Resultados obtenidos de una muestra con su humedad original.
- **Base Parcialmente Seca (BPS)** = Resultados obtenidos de una muestra, cuya humedad es menor al 15%, proceso más usual en el laboratorio.
- **Base Seca (BS)** = Resultados obtenidos de una muestra cuya humedad es cero, proceso que se hace por métodos matemáticos.

En el laboratorio de nutrición animal y valoración de alimentos de la Facultad de Ciencias Pecuarias y por lo anteriormente expuesto, para el análisis de las muestras de alimentos y otros materiales se dividió a estos en dos:

1. Aquellas muestras con un alto contenido de humedad (más del 15%) a los cuales se extrajo la humedad parcial a 65° C. por 48 horas en la estufa de aire forzado, luego se procedió a la molienda, para una vez envasados e identificados realizar el análisis

respectivo (análisis proximal, paredes celulares, etc.), los materiales que se consideran dentro de este grupo están: pastos, forrajes, ensilajes, henolajes, raíces tuberosas, muestras de heces para pruebas de digestibilidad, etc. La determinación de este tipo de humedad la denominamos “Humedad Inicial” o “Humedad en Tal Como Ofrecido”

2. Muestras con bajo contenido de humedad, con un contenido de promedio 10%, que se procedió directamente a la molienda para una vez envasados e identificados realizar el análisis respectivo. Los materiales que se consideran dentro de este grupo están: concentrados, balanceados, henos y muestras que se secaron a 65° C. por 48 horas, etc. La determinación de este tipo de humedad se lo realizó a 105° C. por 12 horas, en una estufa de gravedad y la denominamos “Humedad Parcial” o “Humedad higroscópica”

3.7.2 HUMEDAD “INICIAL” O “TAL COMO OFRECIDO”

(De Gracia, M., 2011) Para los análisis de laboratorio, algunas muestras de alimentos y otros materiales (heces para pruebas de digestibilidad) deben ser presecadas para la molienda, obtener el tamaño de partícula ideal, así como también reducir su humedad para su conservación, se acostumbra a secar la muestra en un horno de convección de aire caliente a una temperatura de 60 -65 °C por 18 a 24 horas. Todas las muestras deberán ser procesadas por duplicado. Con los pesos de los duplicados se obtiene un promedio, y ambos no deben variar más de 1.5% de la diferencia de ambos valores. Esta muestra parcialmente seca es molida y se conserva, debidamente identificada, en envases de vidrio con tapa o en bolsas de plástico con cierres herméticos, para los futuros análisis. **(Colombatto, D., 2003)**, es el caso de forrajes frescos, henolajes, ensilajes, raíces tuberosas y otros materiales que llegan al laboratorio con un alto contenido de humedad. En el caso de los forrajes ensilados, se debería efectuar una corrección por los componentes volátiles producidos durante el ensilaje. En estos casos, se utiliza la destilación con tolueno, método que sin embargo no es muy recomendable debido a su peligrosidad. Una alternativa la constituyen los métodos para corregir la materia seca obtenida en horno a partir de analizar la muestra para productos de fermentación (ácidos grasos volátiles, especialmente). Por su parte **(De Gracia, M., 2011)**, que las muestras con un alto contenido de humedad y son secadas directamente a 105 °C para

extraer totalmente la humedad desde su inicio, dicha temperatura puede provocar reacciones indeseables, tales como la Reacción de Maillard o de empardecimiento, donde los grupos aminos de los aminoácidos, proteínas y aminos, tal como el ϵ -amino de la lisina pueden llegar a reaccionar con carbohidratos, aldehídos y cetonas ligándose, y alterando los resultados posteriores.

Principio del Método

La determinación de la humedad inicial consiste en secar el forraje a menos de 65 grados de temperatura hasta obtener un peso constante, mediante la evaporación; también se puede secar por congelación, luego la muestra se lleva a equilibrio con la humedad ambiente para realizar la molienda para el análisis. La cantidad de muestra residual, convertida a porcentaje luego del secado, se considera como el contenido de materia en base “Parcialmente Seca”

Equipos

1. Estufas de aire forzado.
2. Balanza: que tenga un peso de 5 kg con aproximación de 0,01 gramos.
3. Molino tipo Willey con cribas de 1, 2 y 5 mm de diámetro.



Figura 117. Molino



Figura 118. Estufa

Fuente: Laboratorio de Nutrición Animal y Bromatología FCP (ESPOCH)

✓ Materiales

1. Se puede usar bandejas de hojalata o de vidrio pírex de 30 cm. de largo por 14 cm. de ancho y 4 cm. de alto.
2. Por facilidad del laboratorista se puede utilizar fundas de papel de 15 x 30 cm
3. Frascos de polietileno de 500 ml. de capacidad.

✓ Procedimiento

1. Lave las bandejas y colóquelas en la estufa de aire forzado a 65° C, por cuatro horas como mínimo y luego póngalos a enfriar en un estante o mesa limpios; péselas (tarado de bandejas) y registre el peso en el cuaderno correspondiente, o a su vez utilice fundas nuevas de papel descritas en los materiales

2. Si la muestra ha sido congelada, déjela reposar fuera del congelador durante 6 horas, para que se equilibre con la temperatura ambiente. Sáquela del recipiente en que estuvo guardada y mézclele para homogeneizarle. Luego se pesan de 100 a 150 gramos en una de las bandejas taradas o fundas de papel, se realizan con 3 repeticiones. Registre estos pesos.
3. Ponga la bandeja con la muestra en la estufa de aire forzado a una temperatura de 65° C por un mínimo de 48 horas hasta que haya eliminado un 88 % de humedad. La temperatura no debe ser más alta de la antes indicada, debido a que se puede afectar algunos valores dentro del análisis.
4. Saque la bandeja o fundas de papel de la estufa y colóquela en un lugar limpio y libre de insectos para su enfriamiento por media hora o más, así equilibrar la muestra con la temperatura ambiente.
5. Pesaje de la bandeja con la muestra seca y registre este peso.
6. Proceda a moler las muestras en un molino equipado con un tamiz de acero inoxidable o de bronce de 1mm de diámetro
7. Deposite la muestra molida en un recipiente que no permita la entrada del aire, recipiente que puede ser de polietileno (plástico) de 500 ml de capacidad.
8. Identifique la muestra con el código y número del laboratorio.

✓ Cálculos

$$\%H.I. = \frac{(PB + MS) - (PB \text{ sola})}{(PB + MH) - (PB \text{ sola})} \times 100$$

Donde:

% H.I. = Porcentaje de Humedad Inicial

PB = Peso de la bandeja (recipiente)

MS = muestra seca

MH = muestra húmeda

3.7.3 HUMEDAD “HIGROSCÓPICA” O “PARCIAL”

(Gaggiotti, M., 2008). Expresa el contenido de materia seca total de un alimento y se obtiene secando la muestra en una estufa de gravedad a 105°C hasta peso constante, para eliminar el contenido total de agua. Su valor es importante, pues los resultados de todas las demás determinaciones se expresan en base seca. (De Gracia, M., 2011), El contenido de humedad del material se determina por la diferencia de peso entre el material parcialmente seco y el material seco, para obtener el contenido de materia seca a 105 °C, (Colombatto, D., 2003). Si bien no es considerado un análisis químico per se, una correcta determinación del contenido de materia seca de un alimento dado es fundamental, ya que un error en este paso se transfiere al resto de los componentes químicos, los cuales debieran ser expresados sobre base materia seca para permitir comparaciones con otros alimentos

Principio del Método

La humedad de la muestra se pierde por volatilización a causa del calor, hasta que se haya eliminado el 100 % de agua. Esta humedad se elimina a una temperatura de 105 grados centígrados, durante 12 horas

Equipo

1. Estufa de gravedad a 105° C
2. Balanza analítica de capacidad de 160 gramos y precisión de 0.1 mg
3. Desecador con indicador de humedad



Figura 119. Estufa de gravedad



Figura 120. Balanza analítica



Figura 121. Desecador

Fuente: Laboratorio de Nutrición Animal y Bromatología FCP (ESPOCH (ESPOCH))

Materiales

1. Cápsulas de aluminio de 5 cm de diámetro
2. Pinza universal
3. Espátula

Procedimiento

1. Coloque los recipientes de aluminio (cápsulas) previamente lavados en una estufa a 105 grados centígrados por cuatro horas como mínimo.
2. Enfríe los recipientes de aluminio en un desecador por media hora mínimo, al cabo de lo cual proceda a pesar los recipientes en la balanza analítica con aproximación de 0,1 mg cuidando de manipular las cápsulas con la pinza universal. Registrar el peso.
3. Pese por adición 1.5 gramos de la muestra problema, con aproximación de 0,1 mg, en la cápsula que se encuentra en la balanza analítica. Registre el peso.
4. Coloque las cápsulas con la muestra húmeda en la estufa de gravedad a 105° C, por 12 horas.
5. Saque los recipientes con la muestra seca de la estufa y colóquelos en un desecador por media hora como mínimo para su enfriamiento.
6. Proceda a pesar las cápsulas con la muestra seca. Registre el peso.
7. Lave los materiales utilizados en la presente práctica.

Cálculos

$$\%H.H. = \frac{(PC + MS) - (PC \text{ sola})}{(PC + MH) - (PC \text{ sola})} * 100$$

Donde:

%H.H. = % Humedad

PC = peso crisol

MS = muestra seca

MH = muestra húmeda

IMPORTANTE: Los productos con elevado contenido de azúcares (ejemplo: melaza) y las carnes con un alto contenido de grasa, deben deshidratarse en estufas de vacío a temperaturas que no excedan a los 70 grados centígrados liberando agua.

3.7.4 HUMEDAD TOTAL

(De Gracia, M., 2011) Este procedimiento es cuando se utiliza el presecado de la muestra, a temperaturas $\leq 65^{\circ}\text{C}$, que se denomina materia seca parcial, y luego se somete la muestra u otra porción de la muestra a la extracción total de agua por otro método, en particular los de horno de convección forzada con aire caliente a temperaturas $\geq 105^{\circ}\text{C}$ durante periodos de más de 16 horas o a 135°C por menos tiempo, por lo general no más de dos horas. En este caso, la cantidad total de humedad de la muestra bajo análisis se obtiene multiplicando el porcentaje de humedad obtenido durante el presecado por el contenido de humedad obtenido en el segundo paso o secado total. Como ejemplo, utilizamos la materia seca parcial a 60°C y la obtenida a 105°C

En el caso de alimentos y otros materiales con un alto contenido de humedad, en donde primero hay que determinar una humedad inicial, luego una humedad higroscópica; la humedad total se determina por la siguiente fórmula de (Martines, E., & Lira, L., 2010):

$$\%H.T. = Y + \frac{(100 - Y) * C}{100}$$

Donde:

% H.T.: Humedad Total

Y: Humedad Inicial en %

C: Humedad higroscópica en %

Cenizas

(Bravo, J., 2006) Las cenizas representan la fracción mineral de un alimento expresada como porcentaje de residuo inorgánico producto de un proceso de calcinación, hasta que todo el carbono ha sido eliminado. (Zumbado, H., 2004); (Guaita, M., 2014) Cuando los alimentos son tratados térmicamente a temperaturas entre 500 y 600°C , en un horno llamado mufla, el agua y otros constituyentes volátiles son expulsados como vapores en tanto los constituyentes orgánicos son transformados en presencia del oxígeno del aire en dióxido de carbono (CO_2) y óxido de nitrógeno (NO_2) mientras el hidrógeno es expulsado en forma de vapor de agua, quedando solamente las cenizas. (De Gracia, M., 2011) Los minerales que están presentes

en los alimentos, de muy diversas formas, constituyen la materia denominada inorgánica, la cual se obtiene como residuo de la incineración del material o cenizas. El residuo de la incineración puede variar de acuerdo con el grado de contaminación de la muestra, una muestra altamente contaminada con suelo u otro material mineral nos da como resultado un alto contenido de cenizas. **(Serna, S., & López, S., 2010)** Todos los alimentos contienen elementos minerales formando parte de compuestos orgánicos e inorgánicos. La incineración para destruir toda la materia orgánica cambia su naturaleza; las sales metálicas de los ácidos orgánicos se convierten en óxidos o carbonatos o reaccionan durante la incineración para formar fosfatos, sulfatos o haluros y algunos elementos, como el azufre y los halógenos, pueden no ser completamente retenidos en las cenizas perdiéndose por volatilización. **(Iturbe, F., & Sandoval, J., 2011)** Para la determinación de cenizas, se siguen principalmente dos métodos: En seco y vía húmeda.

En seco es el método más común para cuantificar la totalidad de minerales en alimentos, y se basa en la descomposición de la materia orgánica que dando solamente materia inorgánica en la muestra. Es eficiente, ya que determina tanto cenizas solubles en agua, insolubles y solubles en medio ácido. La determinación húmeda se basa en la descomposición de la materia orgánica en medio ácido, por lo que la materia inorgánica puede ser determinada por gravimetría de las sales que precipiten, y también por algún otro método analítico para las sales que permanezcan en disolución acuosa o ácida. Para la determinación húmeda, se dan cenizas alcalinas, ácidas y neutras. **(Méndez, M., 2020)**, la oxidación húmeda, se realiza con ácido nítrico o sulfúrico concentrado. Posteriormente, el residuo de cenizas puede utilizarse para el análisis del contenido de algunos elementos que, ahora en forma predominantemente mineral, ofrecerán características físicas y químicas que harán posible su identificación y determinación mediante reacciones o pruebas rápidas y completas, con mayor facilidad, exactitud y certeza, La determinación más usada es por el método en seco **(Serna, S., & López, S., 2010)** y debe hacerse aumentando progresivamente la temperatura del horno, hasta alcanzar el rojo oscuro ($\pm 550^{\circ}\text{C}$).

No se debe dejar pasar de esta temperatura pues se podrían descomponer los carbonatos presentes y se volatilizarían otras sustancias como los compuestos de fósforo produciendo resultados erróneos. **(De Gracia, M., 2011)** Dado que la cantidad de cenizas formará parte del total de la materia seca, una alteración en su porcentaje afectará principalmente la energía y la composición estimada de los demás nutrimentos que conforman el alimento. **(Cabrera, A., 2014)**. Nutritivamente el valor de las cenizas tiene poca importancia, aunque valores excesivamente altos pueden indicar una contaminación con tierra o dilución de los alimentos con sustancias tales como sal o piedra caliza. Desde el punto de vista nutricional, el registro del valor de las cenizas tiene escaso valor, sin embargo, desde el punto de vista analítico, el conocer el valor del material inorgánico total es útil cuando se requiere calcular los carbohidratos por diferencia, nos brinda información sobre la naturaleza de la muestra, así como algunas adulteraciones presentes en el alimento. **(Maurelli, J., 2017)** El valor de ceniza se utiliza para determinar por diferencia la materia orgánica (MO) contenida en un alimento. La materia orgánica de un forraje es la fracción que queda de eliminar el agua y la ceniza. **(Nouel, G., 2003)** A partir del porcentaje de ceniza también se calcula el porcentaje de ELN. **(Guaita, M., 2014)**, restando al contenido de materia seca la cantidad de cenizas, se obtiene la materia orgánica.

(Nouel, G., 2003) La determinación de ceniza consiste en la incineración de la muestra 500 a 600 °C con el fin de calcinar toda la materia orgánica presente. La materia inorgánica, la cual no se destruye a esa temperatura recibe el nombre de ceniza. **(Cozzolino, D., 2002)** El análisis específico de minerales se realiza mediante el empleo de otras técnicas e instrumentos más complejos y sofisticados como Absorción Atómica.

Principio del Método

La muestra de un alimento se incinera a 550°C para quemar todo el material orgánico presente en la muestra. El material inorgánico que no se quema a esta temperatura se denomina cenizas. Se lleva a cabo hasta tener una ceniza de color claro o gris. El valor de ceniza se determina mediante la destrucción de la materia orgánica presente en la muestra por calcinación y determinación gravimétrica del residuo.

Equipos

- ✓ Mufla a 550°C
- ✓ Plancha precalcinadora
- ✓ Desecador con silicagel
- ✓ Balanza analítica de 100 gramos de capacidad y 0.1 mg de precisión.



Figura 122. Mufla



Figura 123. Plancha precalcinadora y crisoles

Fuente: Laboratorio de Nutrición Animal y Bromatología FCP (ESPOCH)

Materiales

- ✓ Crisoles de Porcelana o platino
- ✓ Tapas para crisoles
- ✓ Espátula
- ✓ Pinza universal.

Procedimiento

1. El material para utilizarse (crisoles), luego de permanecer en una solución de dicromato de potasio, con la finalidad de limpiar de cualquier material orgánico e inorgánico; procedemos a enjuagar por tres veces consecutivas con agua de la llave y de la misma forma procedemos a enjuagar con agua destilada luego metemos los crisoles a la mufla por un tiempo de 4 horas por lo mínimo para que se efectúe el tarado del material.
2. Se enfría los crisoles en un desecador durante media hora como mínimo al cabo de lo cual se procede a pesar los crisoles en la balanza analítica y se registra este peso en el cuaderno respectivo.

3. Se pesa alrededor de 2.5 gramos de la muestra problema con una aproximación de 0.1 mg, en el crisol que se encuentra en la balanza analítica. Y se registra este peso.
4. Se pasa los crisoles a la plancha precalcinadora y se lo mantiene allí hasta que las muestras se encuentren previamente calcinadas.
5. Se traslada los crisoles con la muestra previamente calcinada a la mufla y se eleva la temperatura a 550c. por el tiempo de 8 horas como mínimo.
6. Se saca los crisoles de la mufla y se los coloca en el desecador por un tiempo de media hora como mínimo para su enfriamiento.
7. Se procede a pesar los crisoles con la ceniza y se registra este peso.

Cálculos

$$\%Ceniza PS = \frac{(PC + C) - (PC solo)}{(PC + M) - (PC solo)} * 100$$

Donde:

$\%Ceniza PS$ = % Ceniza en base parcialmente seco (BPS)

PC = Peso del crisol

C = Cenizas

M = Muestra

$$\%Ceniza BS = \frac{\% ceniza Base BPS * 100}{\% de Materia seca Parcial}$$

Donde:

$\%Ceniza BS$ = % Ceniza en Base Parcialmente Seca (BPS)

$\% de Materia Seca Parcial = 105^{\circ} C = 100 - \% Agua$

Por otra parte la cuantificación individual de compuestos minerales determinados en una muestra digestada se puede realizar empleando técnicas como la espectrometría de absorción atómica con llama por medio de la cual se puede establecer el contenido de minerales en concentraciones del orden de ppm hasta ppb.

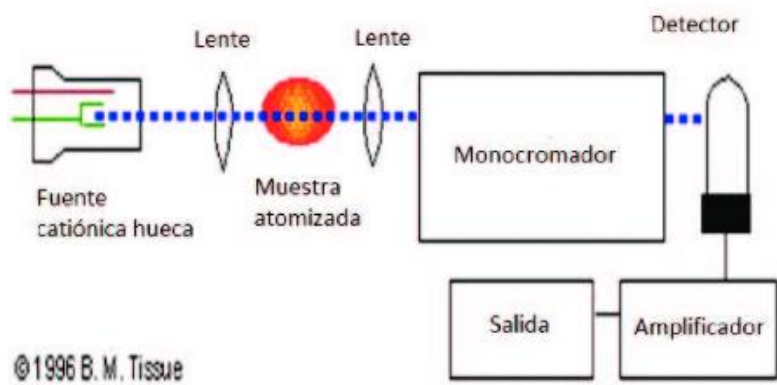


Figura 124. Esquema del método de espectrometría de absorción atómica con llama.

Fuente:Fuente especificada no válida.

Proteína Bruta

(Caravaca, F., 2006); (Maurelli, J., 2017) Las proteínas: son los componentes plásticos de los tejidos animales. Forman los músculos y estructuras complementarias (piel, pelo, pezuñas, etc.) de los mismos, formadas por largas cadenas de elementos más simples, los aminoácidos unidos por un enlace característico que recibe el nombre de enlace peptídico y de las propiedades físicas, químicas y nutricionales dependen de la composición en aminoácidos de la molécula proteica y de la forma como se enlazan para conformar su estructura. El mayor porcentaje de la fracción nitrogenada de los alimentos lo forman las proteínas.

A los compuestos nitrogenados que no son proteínas, se los denomina Nitrógeno no Proteico (NNP). (Méndez, M., 2020) En el trabajo de rutina se determina más frecuentemente la proteína total que las proteínas o aminoácidos individuales. Este método da una apreciación cuantitativa de la proteína presente, mas no orientan sobre la calidad de esta, su riqueza en aminoácidos y capacidad de asimilación, factores que determinan el valor nutricional de la proteína. (Cozzolino, D., 2002); (Gaggioti, M., 2008) expresan que el nitrógeno (N) de los alimentos puede dividirse en dos grupos principales: la proteína verdadera (PV) como otros compuestos nitrogenados no proteicos (NNP) soluble obviando los ácidos nucleicos y otras formas de NNP. (Dieter, H., 1998) Las proteínas contienen aproximadamente 16% de nitrógeno, 51 a 55% de carbono, 6 a 7% de hidrógeno y 21 a 23% de oxígeno. (McDonald, E., et. al., 1995) La mayor parte del nitrógeno que precisan los animales se utiliza para la

síntesis de proteína. Así mismo, la mayor parte del nitrógeno de los alimentos se encuentra formando parte de las proteínas; por consiguiente, es habitual y adecuado expresar las necesidades de nitrógeno de los animales y el contenido de nitrógeno de los alimentos, en forma de proteína.

El cálculo del contenido proteico de los alimentos a partir del contenido de nitrógeno se basa en dos supuestos: en primer lugar, que todo el nitrógeno de los alimentos se encuentra en las proteínas, y en segundo lugar, que todas las proteínas contienen 160 g N/kg. Ambos supuestos son erróneos. Las distintas proteínas de los alimentos tienen distintos contenidos de nitrógeno. El supuesto de que la totalidad del nitrógeno de los alimentos se encuentra en las proteínas también es falso, ya que pueden encontrarse numerosos compuestos nitrogenados sencillos como amidas, aminoácidos, glucósidos, alcaloides, sales amoniacales y lípidos compuestos. **(García E., & Fernández, I., 2012)**, la realidad es que, según la naturaleza del producto, una fracción considerable del nitrógeno procede de otros compuestos nitrogenados (bases púricas y pirimidínicas, creatina y creatinina, urea, amoniac, etc.), por ello se denomina “proteína bruta” o “proteína total” a la obtenida por este método. Con este análisis, sin embargo, no se determina el nitrógeno nítrico, el cianhídrico, el de la hidracina, el de grupos azo y el nitrógeno de un núcleo cíclico. **(Apraez, E., 2020)**, todas estas consideraciones deben tenerse presentes para diferenciar la llamada proteína cruda de la proteína verdadera de los alimentos y además la determinación de cada una de las proteínas que integran el alimento es de poca utilidad práctica. **(Cabrera, A., 2014)**, El análisis de la proteína bruta no establece distinciones entre unas formas de nitrógeno y otras; así no podemos asegurar si una mezcla de piensos posee urea o una proteína de óptima calidad, como caseína (procedente de leche). Además, el N en forma de nitrato no se transforma en sales amoniacales por este procedimiento, por lo que no se incluyen estas dentro de nitrógeno

(Martínez, A., et al., 2014) La proteína bruta (PB), es un principio nutritivo que se define como el contenido en nitrógeno multiplicado por el factor 6,25. El valor 6,25 se deriva del hecho de que las proteínas contienen, por término medio, un 16% de nitrógeno ($100/16=6,25$). **(De Gracia, M., 2011)**. Sin embargo, es conocido que esto no es tan cierto, puesto que se conoce que el porcentaje de nitrógeno en las proteínas varía desde un 15.5 hasta un 18%, por lo que habría que aplicar un factor diferente para cada tipo de proteína. **(García**

E., & Fernández, I., 2012) El contenido proteínico de los alimentos puede determinarse por medio de diversos métodos, así podemos citar, el método Kjeldahl y el Dumas. Desde hace más de 100 años se está utilizando el método Kjeldahl para la determinación del nitrógeno. **(Romero. N., 1997).** Método que tiene **ventajas:** apropiado para varios tipos de productos, alta fiabilidad, usado como método de referencia.

Dentro de las **desventajas:** interfieren compuestos nitrogenados no proteicos. Uso de catalizadores tóxicos o caros, dificultades químicas y prácticas, digestión prolongada. espumosis excesiva, acción corrosiva de ácido sulfúrico sobre el sistema de extracción de humos, consideraciones ambientales respecto a descarga de humos y contaminación de aguas con catalizadores metálicos.

El Método de Dumas, se caracteriza por pirólisis completa de la muestra y medición del contenido de nitrógeno de los gases de combustión. El nitrógeno puede ser medido con manómetro después de absorber el dióxido de carbono en una solución alcalina o por conductividad térmica en métodos automatizados.

(De Gracia, M., 2011) El método de análisis involucra básicamente tres pasos. El primero implica la digestión de la muestra donde el nitrógeno de la materia orgánica se descompone por la acción de una solución concentrada de ácido. Esto se logra por el calentamiento de la muestra en ácido sulfúrico, obteniéndose una solución de sulfato de amonio. En el segundo paso ocurre la destilación donde al agregar un exceso de una base, el amonio iónico se convierte en amonio gaseoso el cual se libera del medio por ebullición y el gas se condensa y atrapa en una solución con un ácido débil. Finalmente, el tercer paso implica la titulación donde se cuantifica la cantidad de amonio presente en la solución resultante. **(Serna, S., & López, S., 2010),** en el trabajo de rutina se determina más frecuentemente la proteína total que las proteínas o aminoácidos individuales. Este método da una apreciación cuantitativa de la proteína presente, mas no orientan sobre la calidad de esta, su riqueza en aminoácidos y capacidad de asimilación, factores que determinan el valor nutricional de la proteína. **(Colombatto, D., 2003)** El análisis de proteína cruda es inadecuado para describir la calidad de la proteína.

Principio

Calentando el alimento con ácido sulfúrico concentrado, los hidratos de carbono y las grasas se destruyen hasta formar anhídrido carbónico y agua. La proteína se descompone con la formación de amoníaco el cual interviene en la reacción con el ácido sulfúrico y forma sulfato de amonio.

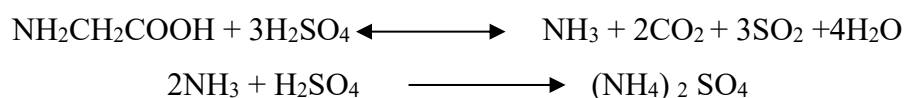
(De Gracia, M., 2011); (Méndez, M., 2020); (Serna, S., & López, S., 2010) Los fundamentos de cada una de las etapas se describen a continuación:

Digestión: Se emplea ácido sulfúrico concentrado y sulfato de cobre como catalizador, que con ayuda de calor y sulfato de potasio oxidan la materia orgánica hasta CO₂ y agua y transforman todo el nitrógeno amínico (NH₂) e imínico (NH=NH) provenientes de proteínas y aminoácidos en ión amonio (NH₄⁺).

La reacción general que tiene lugar es la siguiente:



Varios catalizadores han sido empleados, entre ellos: mercurio, cobre y selenio. Cuando la digestión termina, la solución queda transparente, libre de partículas carbonosas. En el caso de haber empleado como catalizador el sulfato de cobre, la solución toma un color azul verdoso.



Destilación: La muestra digerida se trata con un álcali (NaOH 40% m-V) añadido en exceso, el cual reacciona descomponiendo el sulfato de amonio en amoníaco, que es volátil y se destila por arrastre con vapor.

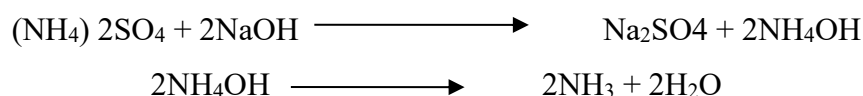
La reacción que tiene lugar es la siguiente:



El amoníaco destilado se recoge en un Erlenmeyer con una mezcla de indicadores (bromocresol verde-rojo de metilo) y solución alcohólica de ácido bórico. La reacción que ocurre es:



El sulfato de amonio en medio ácido es resistente y su destrucción con desprendimiento de amoníaco sucede solamente en medio básico. Por consiguiente, luego de la forma de la sal de sulfato de amonio, actúa en base fuerte al 50% y se desprende todo el nitrógeno en forma de amoníaco:



El amoníaco que se desprende se calcula mediante la absorción de este con 0.1N de una solución de ácido clorhídrico por titulación (AOAC, 2002 citado en Janeta, 2015).

Valoración: El borato de amonio formado se valora entonces utilizando como patrón valorante una solución estandarizada de ácido clorhídrico, según:



El punto final de la valoración estará a pH ácido, por la presencia de ácido bórico finalmente formado.

Equipo

- ✓ Aparato de digestión y destilación Macro Kjeldahl



Figura 125. Digestor



Figura 126. Destilador



Figura 127. Titulador

Fuente: Laboratorio de Nutrición Animal y Bromatología FCP (ESPOCH)

Materiales

1. Balones Kjeldahl de 600ml.

2. Papel bond
3. Frascos Erlenmeyer de 500ml.
4. Buretas
5. Probetas
6. Soporte universal
7. Agitador magnético
8. Barra de agitación

Reactivos

1. H_2SO_4 concentrado
2. NaOH al 50%
3. Catalizador
4. H_3BO_3 al 2,5%
5. Zinc en lentejas
6. Indicador para Macro Kjeldahl (verde de bromocresol y rojo de metilo)
7. HCl estandarizado 0.1N

Procedimiento

Etapa de Digestión

1. Pese en los papeles bond alrededor de 1g. de muestra con aproximación 0.1mg. para esto pese primero el papel, luego proceda a pesar el papel más la muestra y registra estos pesos.
2. Introduzca la muestra con el papel en los balones de Kjeldahl de 600ml.
3. Añada en cada balón aproximadamente 10gr. de catalizador, constituido por 9 de sulfato de sodio más 1 g de Sulfato de cobre.
4. Agregue 25ml. de H_2SO_4 concentrado de cada balón.
5. Coloque los balones en los digestores del equipo Kjeldahl prenda el extractor de vapores y luego los calentadores individuales del equipo.
6. Deje que se digiera la muestra hasta que tome un color verde claro, esto conseguimos en aproximadamente 1 hora. (Etapa de la digestión).

Etapa de Destilación

1. Mientras se realiza la etapa de la digestión proceda a preparar la etapa de la Destilación. Coloque en los matraces Erlenmeyer de 500ml, 100ml. de H_3BO_3 al 2,5%.
2. Una vez realizada la digestión de las muestras con el H_2SO_4 saque con cuidado los balones Kjeldahl de los digestores y déjelos enfriar, mientras se realiza el enfriamiento de las muestras digeridas procede de la siguiente manera.
3. Traslade los matraces Erlenmeyer con el H_3BO_3 al 2,5% al equipo de destilación e introduzca los tubos de vidrio del equipo en los Erlenmeyer, teniendo cuidado que los tubos queden en contacto con el H_3BO_3 al 2,5%.
4. Abra el grifo de agua que está conectado a los refrigerantes del Kjeldahl.
5. Una vez enfriados los balones Kjeldahl con las muestras digeridas, añada a cada balón 200ml. de agua destilada...DESPACIO, CUIDADO ES UNA REACCION EN LA QUE HAY PRODUCCION DE CALOR Y VAPOR .
6. Agregue a cada balón 3 pepitas de zinc granulado.
7. Procedemos a añadir muy cerca del equipo Kjeldahl 100ml. de NaOH al 50% en cada balón.
8. Colocamos inmediatamente el balón de Kjeldahl a cada tapón de hule del equipo de destilación del aparato Kjeldahl, agitamos el balón para la homogeneización de las sustancias producto de la reacción.
9. Prendemos los reverberos del equipo de destilación del aparato de determinación de proteínas y regulamos la temperatura hasta que cada matraz Erlenmeyer con H_3BO_3 al 2,5% se hayan recolectado de 200 a 250 ml. del destilado.
10. Una vez recolectado los 200 a 250 ml. del destilado, sacamos los matraces Erlenmeyer y ponemos de 2 a 3 gotas de indicador macro.

Etapa de la titulación

1. Armamos el equipo de titulación que consiste en el soporte universal con los porta-buretas, la bureta de 50 ml, el agitador magnético y la barra de agitación.
2. Ponemos en la bureta el ácido clorhídrico 0.1N
3. Colocamos dentro del matraz Erlenmeyer con el destilado la barra de agitación y ponemos el Erlenmeyer con el destilado y la barra de agitación encima del agitador magnético.

4. Realizamos la titulación y registramos la cantidad de HCl 0.1 N gastados en la titulación.

Cálculos

$$\%PB = \frac{HCL\ 0.1\ N * 0.014 * 6.25 * mL\ HCL\ 0.1\ gastados\ en\ titulación}{(Pp + M) - (Pp\ solo)}$$

Donde:

%PB = % de Proteína Bruta

Pp = Peso del Papel.

M= Muestra.

0,014 =es el peso atómico del Nitrógeno dividido para mil.

6,25= es el factor de transformación de amoniaco a proteína.

$$\%Proteína\ BS = \frac{\%Proteína\ bruta\ Base\ BPS * 100}{\%de\ Materia\ seca\ Parcial}$$

Donde:

%Proteína BS= % Proteína bruta en Base Parcialmente Seca (BPS)

% de Materia Seca Parcial = 105° C = 100 - % Agua

3.7.5 EXTRACTO ETÉREO

(Salcedo, J., 2012), Extracto etéreo o grasa son compuestos insolubles en agua, solubles en éter, acetona, alcohol, cloroformo, benceno y otros solventes. En el análisis proximal de los alimentos, siempre se hace referencia al extracto etéreo porque en este grupo está incluido, además de los lípidos verdaderos, que son esteres de ácidos grasos (glicéridos, fosfolípidos, cerebrósidos, las lecitinas, los esteroides.), un conjunto de compuestos heterogéneos, como carotenos, clorofilas, las ceras, los ácidos grasos libres, vitaminas liposolubles, pigmentos, xantofilas, resinas y otras sustancias. Estos compuestos son extraídos con éter, que, bajo calentamiento, se torna volátil y al condensarlo, circula por la muestra, lavando y arrastrando

consigo la fracción de grasa que se deposita en el fondo del recipiente colector. **(Serna, S., & López, S., 2010); (Méndez, M., 2020)** El término extracto etéreo se refiere a las sustancias extraídas con éter etílico que incluyen el grupo de nutrientes llamados grasa bruta o lípidos. Son la fuente más concentrada de energía en la dieta, dando aproximadamente 9.3 calorías por gramo, es también esencial para asegurar el aporte dietético de ácidos grasos esenciales y vitaminas liposolubles A, D y E. **(Masson, L., 1997)** Desde el punto de vista de una base de datos de composición de alimentos, el análisis y determinación de los diferentes componentes lipídicos de un alimento encierra una serie de desafíos y problemas. **(Tejada, I., et., al., 1972)**. Los aceites y grasas presentes en la muestra seca se extraen con un disolvente orgánico, para cuantificarse su contenido. **(Reyes, N. & Mendieta, B., 2000)**. Para la extracción del extracto etéreo (E.E.) o Grasa Bruta (GB) se usan diferentes solventes orgánicos como éter dietílico anhidro. Éter de petróleo, hexano, cloroformo. El residuo que da después de evaporar estos solventes recibe el nombre de EE o GB. En el EE están presentes compuestos que se consideran nutrientes y compuestos que no son nutrientes. Excepto las grasas y los aceites cuyos contenidos son cercanos al 100o/o, los alimentos más abundantes en EE son las semillas de oleaginosas (entre 20 y 40°/o), sin embargo, son cultivadas para producción de aceite, pero los residuos son utilizados en la alimentación animal y dependiendo del método de extracción pueden contener entre 1 y 8°/o de EE. El método de extracción por solventes orgánicos produce residuos con bajos 0/o de EE, mientras que el método de extracción mecánica por presión produce residuos con mayor contenido de EE. En la práctica es importante conocer el contenido de grasa del alimento porque:

1. El contenido de EE es la causa principal de la diferencia de la energía bruta de los alimentos ya que mientras los carbohidratos y las proteínas producen cerca de 5 calorías por gramo, el EE produce algo más de 9 calorías por gramo.
2. Los animales en general tienen poca tolerancia a los alimentos grasos
3. La formación de grasa orgánica es más económica a partir de los carbohidratos
4. Se debe tener en cuenta que las harinas de pescado con más 4% de grasa, afectan la calidad del huevo y la carne de los animales que la consumen.

(Salcedo, J., 2012) Al escogerse el solvente a ser utilizado en el análisis, se debe considerar las ventajas y desventajas de cada uno. Las extracciones en alimentos pueden ser hechas con éter etílico anhidro (punto de ebullición 34,6°C) o éter de petróleo (punto de ebullición 40 a

60°C). El éter etílico es un solvente más eficaz que el éter de petróleo, sin embargo, este último es más barato, no absorbe humedad durante la extracción y no requiere de alguna preparación especial, desde que se obedezcan los límites de temperatura de ebullición. **(Tacón, A., 1989)**

En los alimentos de origen animal, debido a que una porción substancial de los lípidos está presente en una forma ligada con las proteínas, se requiere de hidrólisis con HCl antes de la extracción con éter. **(De Gracia, M., 2011)** Para el caso de algunas muestras que poseen grandes cantidades de compuestos solubles en agua, tales como carbohidratos, urea, ácido láctico, glicerol entre otros, se recomienda extraer cinco veces 2 g de la muestra con 20 ml de agua en un pequeño papel filtro y secarla, antes de la extracción. **(Murillo, B., 1994)** Si va a determinar la grasa a heces o dietas que contienen sales de calcio o probablemente haya formación de jabones, los cuales no son solubles en los mismos solventes. En tal caso es necesario hacer una hidrólisis ácida de la muestra antes de la extracción. Muestras ricas en grasa en ocasiones requieren una extracción antes del secado y una segunda extracción después. La Asociación Europea de Producción Animal sugiere el uso de éter de petróleo o de hexano, arguyendo que el éter dietílico (usado tradicionalmente) extrae otras sustancias aparte de la grasa como azúcares y pigmentos. **(Shimada, A., 2007)**. El extracto etéreo que es la estimación de los lípidos se subestima por ejemplo en los ensilajes, al perderse los ácidos grasos volátiles durante la desecación de la muestra. Por otro lado, también incluye ceras que tienen baja digestibilidad. En forrajes verdes, el disolvente extrae los pigmentos. **(De Gracia, M., 2011)** El análisis de extracto etéreo, dado el tipo de solvente que se utiliza, debe ser realizado en cámara extractora de gases y tener mucho cuidado con el uso de cualquier material o equipo que pueda provocar una combustión de manera accidental. **(Ojeda, M., 2012)**.

El extracto etéreo estima el contenido de lípidos o grasas extraídos mediante éter. El contenido de grasa se relaciona directamente con el nivel energético de un alimento, pero su exceso implica pérdidas del valor nutritivo por enranciamiento, oxidación de vitaminas y formación de productos tóxicos. **(McDonald, E., et. al., 1995)** El contenido de grasa del organismo animal es variable y se relaciona con la edad, de manera que los animales de más

edad contienen mas cantidad de grasa que los animales más jóvenes. El contenido de lípidos en las plantas vivas es relativamente bajo, siendo el de la hierba de pastos, por ejemplo de 40 a 50 g/kg de materia seca

Principio del Método

El hexano se evapora y se condensa continuamente y al pasar a través de la muestra extrae materiales solubles en el solvente orgánico. El extracto se recoge en un beaker y cuando el proceso se completa el hexano se destila y se recolecta en otro recipiente, y la grasa que queda en el beaker se seca y se pesa

Equipo

1. Aparato para la extracción de grasa (Goldfish)
2. Balanza analítica
3. Desecador
4. Estufa



Figura 128. Equipo de Goldfish para determinación de grasa

Fuente: Laboratorio de Nutrición Animal y Bromatología FCP (ESPOCH)

Materiales

1. Beakers para el solvente orgánico
2. Dedales de extracción
3. Porta-dedales
4. Beakers para la recuperación del hexano
5. Espátula
6. Pinzas
7. Papel aluminio

Reactivos

1. Éter Etílico
2. Sodio sulfato de anhídrido
3. Algodón desengrasado

Procedimiento

1. Una vez lavados los beakers para el solvente, séquelos en la estufa a 105c. por 2 horas.
2. Sáquelos de la estufa y póngalos en el desecador por 1/2 hora, péselos, registre el peso y vuélvalos al desecador hasta el momento de ser utilizados.
3. Realice el pesaje de las muestras en papel aluminio, pese 1g. de muestra con aproximación de 0.1mg. Registre el peso.
4. Coloque en un papel limpio Na_2SO_4
5. Coloque la muestra pesada con Na_2SO_4
6. Pese el papel aluminio con el residuo de la muestra, registre el peso.
7. Coloque la muestra con el Na_2SO_4 en un dedal.
8. Introduzca un tapón de algodón desengrasado en la boca del dedal.
9. Coloque el dedal dentro del porta-dedal.
10. Coloque los porta-dedales con dedales dentro de los ganchos metálicos que están ubicados en el aparato Goldfish.
11. Saque los beakers del desecador y proceda a poner una medida de Hexano de 25 a 30 cc aproximadamente.
12. Coloque el beaker con el hexano dentro del anillo metálico de rosca.
13. Coloque el anillo metálico con el beaker en el aparato de Goldfish.
14. Abra el grifo de agua que está conectado a los refrigerantes del aparato.
15. Abra la válvula de seguridad 3 veces (estas válvulas se encuentran encima de los refrigerantes del equipo).
16. Levante las parrillas hasta tocar los vasos y ajuste el calor para rendir de 4 a 6 gotas por segundo.
17. Extraiga el extracto etéreo durante 4 horas. En este tiempo debe controlar que el hexano no se evapore.
18. Una vez realizada la extracción del extracto etéreo y al cabo de las 4 horas proceda de la siguiente manera:

19. Baje los calentadores, zafe el anillo metálico de rosca que está conteniendo el E.E.
20. Coloque el beaker con el E.E. en la estufa a 105c. por 1/2 hora.
21. Saque los beakers de recuperación con el solvente que se encuentra en el equipo y ponga el hexano recuperado en el frasco destinado para este fin.
22. Saque los beakers con el E.E. de la estufa y colóquelos en el desecador por 1/2 hora para su enfriamiento. Péselos y registre el peso.

Cálculos

$$\%E.E. = \frac{(PBk + EE) - (PB \text{ solo})}{(PA + M) - (PA \text{ solo})} * 100$$

$\%E.E.$ = % de Extracto Etéreo

PB + EE = Es el peso del beaker más extracto etéreo

PB = Es el peso de beaker solo

PA + M = Es el peso del papel aluminio más la muestra

PA = Es el peso del papel aluminio solo

$$\%E.E. BS = \frac{\% \text{ Extracto etéreo Base BPS} * 100}{\% \text{ de Materia seca Parcial}}$$

Donde:

$\%E.E. BS$ = % Extracto etéreo en Base Parcialmente Seca (BPS)

$\% \text{ de Materia Seca Parcial} = 105^{\circ} \text{ C} = 100 - \% \text{ Agua}$

3.7.5.1 Determinación del Extracto Etéreo por el Método ANKOM

Principio del Método

Las grasas de la muestra son extraídas con éter etílico y a presión, para ser evaluadas como porcentaje del peso después de evaporar el solvente (ANKOM).

Equipos

1. Balanza analítica
2. Sellador de fundas
3. Determinador de grasa ANKOM
4. Estufa
5. Desecador
6. Equipo de hidrolisis



Figura 129. Equipo ANKOM (grasa)



Figura 130. Canastilla y rejilla



Figura 131. Filter bag X74

Fuente: Laboratorio de Nutrición Animal y Bromatología FCP (ESPOCH)

Materiales

1. Filter bags X74 (fundas para grasa)
2. Probeta
3. Fundas Ziploc
4. Papel indicador de pH.

Reactivos

1. Éter etílico

Procedimiento

1. Codificamos las fundas correspondientes a cada muestra.
2. Pesamos la funda y anotamos su peso
3. Homogenizamos la muestra problema y pesamos alrededor de 1g de la misma, con una precisión de 0,1 mg en papel aluminio
4. Procedemos a colocar la muestra en las fundas

5. Pesamos el papel aluminio más el sobrante de la muestra la funda más la muestra y anotamos el peso (peso por diferencia)
6. Sellamos las fundas a una distancia de 0,5 cm y homogenizamos la muestra dentro de la funda
7. Las fundas selladas con las muestras colocamos en un vidrio reloj y las llevamos a una estufa a 105°C durante 12 horas.
8. Retiramos las muestras a un desecador y procedemos a pesar. Registramos el peso.
9. Nota: Cuando se tengan muestras con un porcentaje mayor a 20 % de proteína, se tiene que realizar la hidrólisis de estas, esto debido a que la proteína tiende a formar enlaces con la grasa, lo cual impide una correcta determinación de esta última. Se deben romper estos enlaces, mediante el procedimiento de hidrólisis (ver el proceso en la página 42); de no ser el caso seguir con el siguiente paso.
10. Colocamos las fundas en la rejilla porta fundas, y está la canastilla de teflón del determinador de grasa ANKOM, (máximo 8 muestras) añadimos, 200 ml de éter etílico en el Vesel del equipo y 150 ml en la canastilla de teflón.
11. Abrimos la llave del agua para el reflujo.
12. Cerramos el Vesel y programamos el equipo de acuerdo con las indicaciones del mismo (90°C y 60 minutos).
13. Transcurrido el tiempo indicado apagamos el equipo y cerramos la llave de agua, dejamos enfriar durante 30 minutos.
14. Procedemos a retirar las muestras del equipo ANKOM y las colocamos en una estufa a 105 °C para evaporar el solvente, durante 12 horas.
15. Colocamos las fundas con la muestra digerida en un desecador por una hora y procedemos a pesar. Registramos el peso.

Cálculos

$$\%EEPS = \frac{WMS - WMD}{WMS} * 100$$

Donde:

WMS= peso muestra en materia seca

WMD= peso muestra desengrasada

WMS= peso muestra en materia seca

$$\%E.E.BS = \frac{\% \text{ Extracto etéreo Base BPS} * 100}{\% \text{ de Materia seca Parcial}}$$

Donde:

$\%E.E. BS = \% \text{ Extracto etéreo en Base Parcialmente Seca (BPS)}$

$\% \text{ de Materia Seca Parcial} = 105^{\circ} \text{ C} = 100 - \% \text{ Agua}$

3.7.5.2 Hidrólisis para la determinación de extracto etéreo en muestras con alto contenido de proteína

Equipos

1. Hidrolizador ANKOM
2. Secador ANKOM



Figura 132. Equipo para hidrólisis



Figura 133. Equipo secador

Fuente: Laboratorio de Nutrición Animal y Bromatología FCP (ESPOCH)

Reactivo

1. HCl 3N

Procedimiento

1. Hay muestras con un alto contenido de proteína que interfiere en la determinación de la grasa, por lo cual, se debe hidrolizar las mismas, con el procedimiento a continuación:

2. Colocamos las muestras en la canastilla del equipo de Hidrólisis, juntas en un número máximo de 8.
3. Colocamos la canastilla en el equipo de hidrólisis.
4. Añadimos 500 ml de ácido clorhídrico 3N.
5. Antes de prender el equipo, abrimos la llave del agua para el reflujo.
6. Seguimos las instrucciones para hidrolizar mediante el equipo (60 °C y 90 minutos).
7. Sometemos a continuación a un tiempo de lavado de 40 minutos, con 500 ml de agua.
8. Cuando finalice el lavado se debe verificar el pH con un papel indicador, en caso de no ser neutro, se debe lavar nuevamente.
9. Secar las muestras manualmente, para lo cual se coloca una base de dos toallas absorbentes, sobre ella las muestras y sobre estas, otra capa de toallas absorbentes y finalmente la prensa (12 horas de secado).
10. Colocar las muestras nuevamente en la canastilla y está en el equipo secador ANKOM, para secar por completo debe estar por 3 horas a 134 °C (preestablecido en el equipo).
11. Las muestras van a una funda ziploc y luego al desecador por una hora. Pesar.
12. Una vez terminado este proceso, seguir el procedimiento para determinar extracto etéreo en el equipo ANKOM

3.7.6 FIBRA CRUDA

(Caravaca, F., 2006) Los carbohidratos constituyen la mayor parte de la materia orgánica de la tierra y son el componente estructural de los vegetales, actúan como almacenes de energía, combustibles e intermediarios metabólicos. Básicamente se van a distinguir los hidratos de carbono solubles que son los monosacáridos o azúcares simples mono y disacáridos como la glucosa y la sacarosa, hasta los más complejos polisacáridos como la celulosa y el almidón, que es el almacén de glucosa de los vegetales. Otros hidratos de carbono denominados insolubles engloban a la celulosa y la hemicelulosa que son componentes estructurales de los tejidos vegetales. **Cozzolino, D., 2002)**

Fibra Cruda, es el nombre que recibe el método químico para describir la porción más indigestible de un alimento. El valor obtenido por este método no refleja la cantidad real de fibra en el alimento, debido a que no evalúa adecuadamente la celulosa, hemicelulosa y la

lignina. **(Mc Donald, E., et. al., 1995)** Los carbohidratos de los alimentos se encuentran en dos fracciones llamadas fibra bruta (FB) y extractivos libres de nitrógeno (ELN). La primera se determina sometiendo a ebullición con un ácido y un álcali de concentraciones definidas, el residuo de la extracción con éter; el residuo orgánico representa a la fibra bruta. **(Apráez, E., 2020)** Este hecho condujo a que los investigadores los agrupasen en dos: los más digestibles y los menos digestibles, en el caso del método Weende. El residuo que queda libre de componentes solubles como proteína, azúcares, almidones, etc., es lo que se conoce como fibra cruda, después de descontar la ceniza y que está compuesta principalmente por lignina y celulosa. La fracción fibra bruta incluye la celulosa, lignina y hemicelulosas. **(Serna, S., & López, S., 2010); (Méndez, M., 2020)**, además esta constituida por pentosanas, suberina, cutina, alginatos y pectinas; constituyentes, junto con pequeñas cantidades de sustancias nitrogenadas, de las estructuras celulares de los vegetales. Aunque la fibra no posee un valor nutritivo apreciable, su función en el tracto intestinal es la de aumentar el volumen de las materias nutritivas y estimular el peristaltismo intestinal. No es posible determinar el gran grupo de carbohidratos por medio de un procedimiento analítico sencillo puesto que está integrado por numerosas entidades químicas que carecen de una característica analítica común, por lo cual se ha dividido toda esta fracción (carbohidratos) en dos grandes grupos. **(De Gracia, M., 2011)**, la fibra es uno de los componentes del tejido vegetal, en especial de los forrajes, que ha causado gran controversia tanto en su definición como en su determinación. Si se utiliza el método de análisis proximal o de Weende la fracción resultante identificada como fibra cruda no está constituida de manera uniforme por compuestos específicos, y se dan casos donde pueden retenerse o perderse compuestos que no son propiamente parte de la fibra del alimento. En términos generales se consideraba que la fibra formaba la mayor parte del material indigerible de los alimentos. Gran parte de esta fracción pasaba a través del tracto digestivo con muy pocas alteraciones químicas y su aporte a la nutrición del animal era mínimo o casi nulo. En muchos casos esto resultaba cierto para animales de estómago simple. No obstante, para animales de estómago compuesto o rumiantes, este principio no es valedero, puesto que las bacterias y otros organismos que están presentes en el retículo rumen de estos animales poseen enzimas capaces de degradar parte de los compuestos que conforman la fibra, tales como la celulosa y la hemicelulosa. En

algunos casos, de animales herbívoros no rumiantes parte de la fibra puede ser digerida a nivel del ciego y colon, obteniéndose alguna utilidad de esta.

La determinación de la fibra cruda para **(Cabrera, A., 2014)**, se trata de un método de laboratorio que intenta simular primero la digestión, que tiene lugar en el estómago y después en el intestino delgado de los animales. La fibra bruta representa primordialmente a los carbohidratos de las estructuras vegetales, tales como la celulosa y hemicelulosa, aunque contiene algo de lignina, un material sumamente indigestible asociado con la porción fibrosa de los tejidos vegetales para los animales monogástricos, el valor de la fibra bruta es variable, aunque siempre escaso; su valor no es constante para rumiantes, aunque la utilizan mucho mejor que los animales monogástricos. **(Paquete, N., 1997)**. Se basa en el tratamiento secuencial con ácidos y álcalis en condiciones estandarizadas. El restante, **(Dieter, H., 1998)**, la fibra cruda, contiene carbohidratos estructurales de la planta (celulosa y hemicelulosa) y una serie de sustancias incrustadas inicialmente se pensaba que la fibra cruda era la fracción indigestible de los alimentos, sin embargo, se ha probado que solamente la lignina se puede denominar como tal, pero esta se disuelve hasta el 90% durante la determinación de la fibra cruda. Por este motivo, se han hecho muchos esfuerzos para remplazar la determinación de la fibra cruda por métodos más específicos. **(Morón, C., et. al., 1997)**, con este método se subvalora en forma importante el contenido de fibra de los alimentos ya que se disuelve gran parte de la hemicelulosa y lignina, cantidades variables de celulosa y toda la fibra soluble. Es por eso por lo que la fibra cruda tiene poca significancia fisiológica en la nutrición humana y animal y no debe usarse para informar del contenido de fibra de los alimentos.

(Jaimes, L., et. al. 2018). **(Cabrera, A., 2014)**. La cuantificación del contenido de fibra partió de la necesidad de incorporar este componente en los análisis proximales que se comenzaron a realizar desde mediados del siglo XVIII. Durante la primera mitad del siglo XIX se utilizaron dos técnicas para la determinación de la “fibra maderable”, las cuales posiblemente eran derivaciones de los procedimientos desarrollados desde finales del siglo XVIII, incluido el método que una estaba basada en el uso de alcohol en agua caliente; la otra se basaba en el uso de alcohol, un ácido y un álcali diluidos, esta última se constituyó en el antecedente más claro de lo que posteriormente se denominaría la técnica de la “fibra cruda”. Al finalizar el siglo XIX y en el comienzo del XX persistía la idea que la “fibra cruda” estaba constituida principalmente por celulosa y representaba la fracción menos

valiosa de los alimentos sin que se hiciera alusión a otros componentes. Henneberg y Stohmann, sin embargo, habían señalado que la lignina era un compuesto indigerible que hacía parte de la “fibra cruda” y que afectaba la digestibilidad de los forrajes: “En 1900 Kellner y Köeler mostraron que cuando la celulosa es liberada de la lignina, su digestibilidad es tan alta como la de los almidones, sugiriendo que la lignina no solo es indigerible, sino que, además, afecta la digestibilidad de la celulosa. Al cierre de la primera mitad del siglo XX había un acuerdo sobre las dificultades centrales del método de “fibra cruda” de Henneberg y Stohmann que se resumen así:

1. La alta variabilidad en la composición química tanto de la fibra cruda como del extracto libre de nitrógeno.
2. La solubilización parcial de la celulosa, hemicelulosa y lignina ocasionada por el uso de un ácido y una base fuertes, así estos compuestos estuviesen diluidos.
3. El hecho que ocasionalmente la digestibilidad de la fibra cruda sea mayor que la del extracto libre de nitrógeno. Hoy se han logrado explicar. Se asume que los compuestos que se solubilizan en la determinación de la fibra cruda, así como las imprecisiones detectadas en las determinaciones de las otras fracciones, hacen parte del extracto libre de nitrógeno. En esta situación este extracto, que no es determinado sino estimado, estaría contaminado por constituyentes que no le son propios, sino que proceden de procesos orientados a otras determinaciones.
4. La imposibilidad de fraccionar los componentes de la pared celular vegetal y la retención de cantidades importantes de nitrógeno que inflaban el valor de esta fracción (**Van Soest, P. 1963a**).

Principio del Método

La muestra problema se digiere primero con una solución de ácido diluido luego con una solución de base diluida. Los residuos orgánicos restantes se recogen en un crisol de filtración y se lavan con un solvente orgánico para eliminar el E.E. La pérdida de peso y después de quemar la muestra se denomina fibra cruda

(**AOAC, 2002**), manifiesta que el ácido hidroliza a los carbohidratos insolubles, los álcalis transforman en estado soluble las sustancias albuminosas, separan la grasa, disuelven parte

de la hemicelulosa y lignina, el éter o acetona extraen las resinas, colorantes residuos grasos y eliminan el agua; lo que queda es la fibra bruta.

Equipo

Aparato de determinación de fibra cruda, que consiste en calentadores individualmente controlados y condensadores enfriados por agua.

- ✓ Equipo para la determinación de fibra cruda “LABCONCO”
- ✓ Estufa
- ✓ Mufla
- ✓ Equipo de bomba de vacío



Figura 134. Equipo determinador de fibra



Figura 135. Bomba de vacío

Fuente: Laboratorio de Nutrición y Bromatología animal (ESPOCH)

Materiales

- ✓ Beakers para la digestión de 600ml de capacidad
- ✓ Probetas graduadas
- ✓ Crisoles de gooch
- ✓ Piscetas
- ✓ Papel aluminio
- ✓ Pipetas volumétricas de 2ml de capacidad

Reactivos

- ✓ H₂SO₄ al 7 por mil

- ✓ NaOH al 22%
- ✓ Alcohol-n-amílico
- ✓ Acetona
- ✓ Lana de Vidrio

Procedimiento

1. Pesar 1g. de la muestra problema con aproximación de 0.1mg. en papel aluminio, registrar peso.
2. Colocar la muestra pesada en el beaker de digestión tipo alto sin pico, de capacidad de 600ml.
3. Pesar el papel aluminio con el sobrante de la muestra y registrar el peso.
4. Añadir a cada beaker de 600ml por los lados-para no dañar la muestra-200ml de H_2SO_4 al 7 por mil.
5. Añadir 2ml de Alcohol-n-amílico al beaker que está con el H_2SO_4 al 7 por mil y la muestra.
6. Colocar los beakers en las hornillas del equipo de extracción de fibra y levantar las parrillas hasta que los beakers coincidan con los tubos refrigerantes del equipo.
7. Abra el grifo de agua que está conectado con la manguera del refrigerante del equipo de extracción de fibra cruda.
8. Prenda el equipo, regule la T y espere hasta que la solución empiece a hervir.
9. Tome el tiempo desde que la solución empieza a hervir y deje que se realice la digestión ácida de la muestra por 30 minutos exactos.
10. Una vez realizada la digestión ácida, baje las parrillas del equipo, saque los beakers y añada 20ml. de NaOH al 22%.
11. Coloque nuevamente los beakers en las parrillas del equipo, levante las hornillas hasta que los beakers coincidan con los bulbos refrigerantes del equipo.
12. Tome el tiempo desde que la solución empieza a hervir, deje que se realice la digestión alcalina de la muestra por otros 30 minutos exactos.
13. Mientras se realiza la digestión alcalina de la muestra proceda a armar el equipo de filtración al vacío y preparación de crisoles de gooch.
14. Conecte el kitasatos a la bomba de vacío
15. Coloque en los crisoles de gooch un pedazo de lana de vidrio

16. Lave los crisoles de gooch que contienen la lana de vidrio con agua destilada caliente.
17. Una vez terminada la digestión alcalina después de los 30 minutos, baje las parrillas del equipo, apague el aparato, cierre las válvulas del agua y saque los beakers con la muestra ya digerida.
18. Utilizando el equipo de vacío, filtre las muestras digeridas en los crisoles de gooch que se encuentran conteniendo la lana de vidrio.
19. Ayudados de una pipeta lave los beakers y la muestra con agua destilada caliente. Utilice de 200 a 300ml. de agua destilada caliente.
20. Traslade los crisoles con las muestras digeridas y desengrasadas a la estufa, a una temperatura de 105°C. y deje por ocho horas para su secamiento.
21. Saque los crisoles con las muestras de la estufa y colóquelos en el desecador por 1/2 hora como mínimo para su enfriamiento, luego de lo cual pese los crisoles con las muestras y registre el peso.
22. Coloque los crisoles con la muestra seca en la mufla a 550°C por 4 horas.
23. Transcurridas las 4 horas, saque de la mufla los crisoles con la muestra incinerada y póngales en el desecador por 1/2 hora, al cabo de lo cual pese los crisoles con las cenizas. Registre el peso.
24. Lave los materiales utilizados en la determinación de fibra cruda.

Cálculos

$$\%F.C.PS = \frac{(PCMD) - (PCC)}{(PA + M) - (PA \text{ solo})} * 100$$

Donde:

$\%F.C.PS$ = % Fibra Cruda en base Parcialmente Seca

PCMD: Peso del Crisol con muestra digerida

PCC: Peso del crisol con ceniza

PA: Peso de papel Aluminio

M: Muestra

$$\%F.C.BS = \frac{\% \text{ Fibra Cruda en Base BPS} * 100}{\% \text{ de Materia seca Parcial}}$$

Donde:

$\% F.C. BS = \% \text{ Fibra Cruda en Base Seca}$

$\% F.C. BS = \% \text{ Fibra Cruda en Base Parcialmente Seca (BPS)}$

$\% \text{ de Materia Seca Parcial} = 105^\circ \text{ C} = 100 - \% \text{ Agua}$

3.7.6.1 Fibra Método ANKOM

Principio del Método

Este método permite determinar el contenido de fibra en la muestra, después de ser digerida con soluciones de ácido sulfúrico e hidróxido de potasio y calcinado el residuo. La diferencia de pesos después de la calcinación nos indica la cantidad de fibra presente (ANKOM).

Equipos

1. Balanza analítica
2. Sellador de Filters bags
3. Desecador
4. Determinador de fibra ANKOM
5. Estufa
6. Mufla



Figura 136. Equipo ANKOM (fibra)



Figura 137. Canastilla de 9 bloques

Fuente: Laboratorio de Nutrición Animal y Bromatología FCP (ESPOCH)

Materiales

1. Filters bags Ankom F57 (fundas para fibra)
2. Canastillas de 9 bloques para tres bags en cada uno
3. Capsula hidromática
4. Vidrio reloj
5. Probeta
6. Toallas absorbentes

Reactivos

1. H_2SO_4 0,13M
2. KOH 0,23M
3. Acetona

Procedimiento

1. Codificamos las fundas F57 correspondientes a cada muestra.
2. Colocamos los filter bags F57 en la estufa a 105 °C, durante 12 horas.
3. Transcurrido este lapso, llevamos al desecador durante media hora por lo menos para su enfriamiento.
4. Pesamos la funda y anotamos su peso
5. Homogenizamos la muestra problema y pesamos aproximadamente 1 g, con una precisión de 0,1 mg en papel aluminio.
6. Procedemos a colocar la muestra en las fundas.
7. Pesamos el papel aluminio con el sobrante de la muestra, registramos el peso.
8. Pesamos la funda más la muestra y anotamos el peso.
9. Sellamos las fundas a una distancia de 0,5 cm y homogenizamos.
10. Desengrasar las muestras con acetona durante 8 horas cada 60 minutos, agitando 3 veces, comprimiendo y cambiando el solvente cada vez.
11. Dejar al ambiente para evaporar el solvente por lo menos durante 1 hora.
12. Ubicar las fundas en las canastillas (3 en cada una) de manera que la última quede vacía. Nota: Las fundas deben ser mínimo 15 y máximo 24 para poder utilizar el equipo.
13. Colocar en el equipo el ácido sulfúrico 0,13M (1800 a 2000 ml)

14. Colocamos la canastilla en el equipo y cuidadosa y lentamente la sumergimos ayudados con la pesa incluida en el equipo.
15. Comprobamos la agitación del equipo.
16. Cerramos el equipo y programamos de acuerdo a las indicaciones (90 °C y 45 minutos).
17. Transcurrido este tiempo, apagar la agitación y el calor en el equipo.
18. Abrimos la válvula de salida del líquido reduciendo la presión para posteriormente abrir la tapa
19. Realizamos tres lavados con agua destilada a 100 °C, calentada aparte, durante 5 minutos encendiendo el botón de agitación, pero no el de calentamiento ni cerrando la tapa, abriendo cada vez la válvula de salida de líquido.
20. Cerramos la válvula de salida del líquido del equipo
21. Retiramos la canastilla del equipo y procedemos a colocar el KOH 0,23M (1800 a 2000 ml), realizamos el mismo procedimiento como lo hicimos con el ácido.
22. Colocamos la canastilla en el equipo y la sumergimos ayudados con una pesa.
23. Comprobar la agitación del equipo.
24. Cerramos el equipo y programamos de acuerdo a las indicaciones (90 °C y 45 minutos).
25. Transcurrido este tiempo, apagar la agitación y el calor en el equipo.
26. Abrimos la válvula de salida del líquido reduciendo la presión para posteriormente abrir la tapa.
27. Realizamos siete lavados con agua destilada a 100 °C, calentada aparte durante 5 minutos encendiendo el botón de agitación, pero no el de calentamiento ni cerrando la tapa, abriendo cada vez la válvula de salida de líquido.
28. Realizado el proceso de digestión básica sacamos las muestras de la canastilla y comprimiendo extraemos el agua, si al hacerlo sale espuma colocamos nuevamente las fundas en el equipo y lavamos 2 o 3 veces más.
29. Luego las colocamos en la plancha para eliminar el máximo de humedad.
30. Volvemos a desengrasar una última vez durante 60 minutos.
31. Evaporamos el solvente por una hora.
32. Secamos las muestras en una estufa a 105 °C durante 12 horas.

33. Retiramos las muestras de la estufa y las colocamos en un desecador durante 30 minutos, y procedemos a pesar.
34. A continuación, taramos crisoles de porcelana.
35. Las muestras digeridas pesadas colocamos en los crisoles tarados y llevamos a la mufla por 4 horas a 550 °C.
36. Retiramos los crisoles de la mufla y los colocamos en el desecador durante una hora y procedemos a pesar. Registramos el peso.

Cálculos

$$\%F.C. PS = \frac{(WMS - WCc)}{(WMS)} * 100$$

Donde:

$\%F.C. PS$ = % de Fibra Cruda en base Parcialmente Seca

WMS= peso materia seca

WCc= peso cenizas

WMS= peso muestra seca

EXTRACTO LIBRE DE NITRÓGENO

(Serna, S., & López, S., 2010); (Méndez, M., 2020) En el Extracto No Nitrogenado se agrupan mono y disacáridos, la parte soluble de la celulosa, pentosanas y lignina, las hemicelulosas, el almidón, la inulina y toda clase de azúcares, materias pépticas, ácidos orgánicos y otras materias solubles libres de nitrógeno. (Mc Donald, E., et. al., 1995) Restando a 100 la suma de las cantidades correspondientes a la humedad, cenizas, proteína bruta, extracto etéreo y fibra cruda (expresada en g/kg), se obtiene la fracción denominada extractivos libres de nitrógeno.

La fracción correspondiente a los extractivos libres de nitrógeno está formada por una mezcla de todos los componentes no determinados en las otras fracciones. Además de los componentes mencionados anteriormente, incluye fructanos, almidones, pectinas y pigmentos y como cita (De Gracia, M., 2011) esta fracción está compuesto principalmente

de carbohidratos altamente disponibles, tales como azúcares y almidón, pero también puede contener hemicelulosa y lignina, especialmente en forrajes. (Apráez, E., 2020), sin embargo, este sistema tiene fallas serias, debido a que el ELN se calcula por diferencia, acumulando los errores de las determinaciones. Además de que el ELN no es producto de un proceso, sino el residuo de una operación matemática. La fibra cruda por su parte es un término descriptivo de poco valor y se ha demostrado que el valor nutritivo de éste, en muchos casos, es mayor al del ELN en el mismo alimento.

De tal manera que esta es una fracción que no se determina y proviene de la diferencia de:

$$\text{ELN} = 100 - (\text{H}_2\text{O} + \text{cenizas} + \text{proteína} + \text{fibra cruda} + \text{extracto etéreo})$$

3.8 PROCEDIMIENTOS PROPUESTOS POR LA FAO

(Tekola, B., 2011). La disponibilidad de datos analíticos precisos, confiables y reproducibles es imprescindible para una formulación adecuada de los alimentos. Además, solo los datos confiables pueden llevar a la generación de datos científicos sólidos.

Los informes recibidos de expertos internacionales que visitan laboratorios de nutrición animal, dedicados al análisis de alimentos e ingredientes de alimentos en países en desarrollo, resaltan la necesidad de fortalecer los sistemas de garantía de calidad en estos laboratorios. Varias pruebas realizadas en países desarrollados han demostrado una variación inaceptable para algunos analitos que se determinan de forma rutinaria en los laboratorios de análisis de piensos. De manera similar, la evidencia recibida de las industrias de piensos en los países en desarrollo sobre la confiabilidad de los datos de análisis de piensos sugiere que esto es inconsistente, por lo tanto, se realizó una necesidad urgente de producir un documento que cubra los sistemas de garantía de calidad que garantice los procedimientos de garantía de calidad en los análisis de laboratorio.

El documento con estas técnicas ha sido desarrollado y preparado por un panel de nueve expertos. El énfasis está en el análisis básico utilizado para determinar el valor nutricional de los alimentos y los ingredientes de los alimentos, la adopción de estas prácticas y

procedimientos ayudará a los laboratorios a obtener el reconocimiento de la competencia requerida para la certificación o acreditación y también mejorará la calidad de los datos informados por los laboratorios de análisis de piensos.

Por lo tanto se pone en consideración de los lectores los procedimientos de estas técnicas de análisis proximal y paredes celulares preparados por la F.A.O., para ser utilizados en los laboratorios de valoración de alimentos a nivel mundial como una base sólida para que los laboratorios puedan desarrollar un sistema que cumpla con los requisitos de las normas internacionales y conseguir de esta manera que los reportes de resultados de análisis sean similares en todos los laboratorios y de esta manera proporciona un servicio consistente, confiable, eficiente y profesional con el nivel de calidad requerida por los clientes del laboratorio.

3.8.1 DETERMINACIÓN DE MATERIA SECA (FAO)

Principio del método

La materia seca se determina gravimétricamente como el residuo que queda después de secar a 103 °C en un horno ventilado.

Alcance del método

Este procedimiento es aplicable para la determinación de materia seca en ingredientes alimenticios, piensos y forrajes parcialmente secos (85% de materia seca) con bajo contenido de ácido volátil, para alimentos de grano entero, ensilaje y alto contenido de azúcar, utilice un procedimiento diferente, en la determinación de materia seca en granos, seque a 135 ± 2 °C durante 2 horas; para ensilajes (tamaño de muestra: mínimo 500 g) use 60 ± 1 °C durante 24 horas y para muestras con alto contenido de azúcar (p. ej. melaza, bagazo, pienso compuesto que contenga más del 4% de sacarosa o lactosa) use 80–85 °C en un horno al vacío. Además de la humedad, otros compuestos volátiles, como el amoníaco y los ácidos grasos volátiles, desaparecen durante el secado. Esto debe tenerse en cuenta al calcular el contenido de humedad. Las muestras deben analizarse por duplicado. La diferencia entre los valores de dos determinaciones paralelas realizadas en la misma muestra no excederá el 0.2% del valor absoluto de la materia seca. Si la diferencia es superior al 0.2% repita el análisis.

Equipo y materiales de laboratorio

1. Plato de aluminio (bandeja), de aproximadamente 50 mm de diámetro, 40 mm de profundidad,
2. Balanza electrónica analítica, precisa a 0.1mg.
3. Horno de secado por aire forzado a 103 ± 2 °C. El horno debe estar equipado con un estante para permitir la circulación del aire. Debe ser operado con respiraderos abiertos.
4. Desecador
5. Pinzas de laboratorio para bandejas o crisoles

Procedimiento

1. Colocar los platos de aluminio con tapa en el horno de secado a 103 ± 2 °C durante al menos dos horas.
2. Transcurridas las dos horas mover los platos de aluminio a un desecador.
3. Tapar inmediatamente el desecador y permitir que los platos cubiertos se enfríen a temperatura ambiente. No permitir que los platos permanezcan en el desecador por más de 2 horas.
4. Pesar los platos con tapa (W1) al 0.1 mg, de precisión, retirando uno a la vez del desecador y manteniendo el desecador cerrado entre cada extracción de platos. Usar pinzas de laboratorio para manejar los platos
5. Agregar aproximadamente 2 g de muestra molida a cada plato. Registre el peso del plato con tapa al 0.1 mg. de precisión (W2)
6. Agitar el plato suavemente ayudados de la pinza para distribuir uniformemente la muestra y exponer el área máxima para secar.
7. Insertar las muestras en un horno precalentado a 103 ± 2 °C y secar durante al menos dos horas (con las tapas retiradas a un lado), comience a cronometrar una vez que el horno haya alcanzado la temperatura.
8. Pasadas las dos horas, mover las muestras a un desecador, colocar la tapa en cada plato, sellar el desecador y dejar que se enfríe a temperatura ambiente. No permitir que las muestras permanezcan en el desecador por más de 2 horas.
9. Pesar el plato con tapa y muestra seca (W3), registrando el peso a 0.1 mg de precisión.

Cálculo

$$\%M.S. = \frac{(W3 - W1) * 100}{(W2 - W1)}$$

Donde:

% M.S. = % de Materia Seca

W1 = peso del plato vacío (g)

W2 = peso del plato y muestra (g)

W3 = peso del plato y muestra después del secado (g)

% Humedad = 100 – % M.S,

3.8.2 CENIZAS

Principio del método

(A.O.A.C. 930.15. 2000) La ceniza se determina gravimétricamente como el residuo después de la incineración a 550 °C.

Alcance del método

1. Este procedimiento es aplicable para la determinación de cenizas en los ingredientes y piensos. Este método no puede usarse para mezclas minerales. Las muestras deben analizarse por duplicado. La diferencia entre los valores de dos determinaciones paralelas realizadas en la misma muestra no deberá exceder el 0.2% en términos absolutos para contenidos inferiores al 10% (con una diferencia máxima de 0.5%-unidades).
2. Si el residuo contiene partículas carbonosas, humedezca con agua destilada, evapore el agua cuidadosamente hasta la sequedad a 103 ± 2 °C e incinere durante una hora a 550 ± 20 °C.
3. No permita que la muestra se enfríe por debajo de 200° C en el horno de incineración antes de transferirla a un desecador porque la muestra puede absorber humedad.
4. No permita que la muestra permanezca en el desecador a temperatura ambiente durante más de 2 horas antes de pesarla.
5. Tenga en cuenta que algunas muestras hacen espuma del crisol. Si esto ocurre, repita el análisis con arena lavada con ácido y/o use un crisol más grande.

6. El horno no debe precalentarse. Esto evita la ignición rápida de la muestra y permite la pérdida lenta de humedad. La ignición rápida puede causar llamas y la pérdida rápida de humedad puede causar salpicaduras de la muestra

Equipo y materiales de laboratorio

1. Plato de incineración o crisol
2. Balanza electrónica analítica, precisión a 0.1mg.
3. Horno de mufla, capaz de mantener temperaturas de 550 ± 20 °C.
4. Horno de secado por aire forzado a 103 ± 2 °C.
5. Desecador
6. Pinzas de laboratorio para bandejas o crisoles

Procedimiento

1. Coloque el plato de incineración o crisol en un horno de secado a 103 °C durante al menos 2 horas, retirar del horno y enfriar en un desecador.
2. Transcurridas las dos horas mover los platos de aluminio a un desecador.
3. Tapar inmediatamente el desecador y permitir que los platos cubiertos se enfríen a temperatura ambiente. No permitir que los platos permanezcan en el desecador por más de 2 horas.
4. Pesar los platos de incineración o crisol (W1) al 0.1 mg, de precisión, retirando uno a la vez del desecador y manteniendo el desecador cerrado entre cada extracción de platos. Usar pinzas de laboratorio para manejar los platos
5. Agregar aproximadamente 5 g de muestra al plato. Registre el peso del plato al 0.1 mg. de precisión (W2)
6. Colocar el plato en un horno de mufla precalentado a 550 ± 20 °C durante 3 horas.
7. Inspeccionar visualmente si el residuo está libre de partículas carbonosas. En caso de contener partículas carbonosas proceda como indica el paso dos del “Alcance del Método”
8. Transferir el plato a un desecador y déjelo enfriar a temperatura ambiente (aproximadamente 45 minutos).
9. Pesar el plato con tapa y cenizas (W3), registrando el peso a 0.1 mg de precisión.

Cálculo

$$\%Cenizas = \frac{(W3 - W1) * 100}{(W2 - W1)}$$

Donde:

W1 = peso del plato o crisol vacío (g)

W2 = peso del plato o crisol y la muestra (g)

W3 = peso del plato y los residuos después de la incineración (g)

3.8.3 NITRÓGENO Y PROTEÍNA BRUTA

Principio del método

Para la determinación del nitrógeno, la muestra se digiere usando ácido sulfúrico con presencia de un catalizador para convertir la muestra de nitrógeno en sulfato de amonio. La solución ácida se convierte en alcalina con una solución de hidróxido de sodio. El amoniaco se destila y se recoge en un exceso de solución de ácido bórico, seguido de valoración con solución de ácido sulfúrico. Para la determinación del nitrógeno de proteína bruta se multiplica por un factor, 6.25

Alcance del método

1. La diferencia entre los valores de dos determinaciones paralelas realizadas en la misma muestra no debe exceder del 0.2% en valor absoluto, para contenidos de proteína cruda de menos del 20%, 1,0% en relación con el valor más alto, para contenidos de proteína cruda del 20% al 40%, y 0.4% en valor absoluto, para contenidos de proteína cruda de más del 40%
2. Este método también puede usarse para la determinación de amoníaco en muestras de ensilaje. El procedimiento debe realizarse sin digestión.
3. El catalizador también puede ser fabricado por el laboratorio. Debe contener 3,5 g de potasio. sulfato y 0.4 g de sulfato de cobre (II) pentahidrato.

Equipo y materiales de laboratorio

1. Balanza analítica con precisión a 0.1mg.
2. Papel aluminio
3. Tubos de digestión instalados para la unidad de digestión Kjeldahl.
4. Unidad de digestión Kjeldahl con colector de extracción de humos.

5. Aparato de destilación Kjeldahl.
6. Matraz cónico de 500 ml de capacidad
7. Unidad de titulación

Reactivos

1. Ácido sulfúrico, concentrado, 95–98% (p / v), grado de reactivo.
2. Tabletas de catalizador de Kjeldahl.
3. Ácido bórico, 10 g/litro.
4. Solución de NaOH, 40% (p / v).
5. Solución indicadora: indicador de rojo de metilo, disuelva 1 g de rojo de metilo (sal de sodio) en 100 ml de metanol o etanol
6. Solución volumétrica estándar de ácido clorhídrico, $c = 0.1 \text{ M}$ (con precisión de 0.1000 M).

Procedimiento

Digestión

1. Pesar por diferencia aproximadamente 1 g de muestra sobre el papel aluminio con una precisión de 0.1 mg (W1) y transferir al tubo de digestión. En cada lote use un tubo sin muestra como prueba en blanco.
2. Pesar el papel aluminio con el sobrante de la muestra con una precisión de 0.1 mg (W2)
3. Agregar dos tabletas de Kjeldahl o utilizar el catalizador preparado en el laboratorio como lo señala el punto 3 de “Alcance del método”
4. Añadir 20 ml de ácido sulfúrico. Si fuma (humea) es un problema, agregue unas gotas de agente antiespumante.
5. Colocar los tubos en una unidad de digestión y conectar al colector de extracción de humos.
6. Permitir que se digiera la muestra al menos por una 1 hora a $420 \pm 20^\circ \text{C}$.
7. Apagar la digestión, retirar los tubos y dejar que se enfríe durante 10 a 20 minutos.
8. Agregar agua destilada a cada tubo hasta un volumen total de aproximadamente 80 ml.

Destilación

1. Coloque en el matraz cónico entre 25-30 ml de ácido bórico concentrado (preparado según el punto tres de “Reactivos”) debajo de la salida del condensador de la unidad de destilación, de tal manera que el tubo de suministro esté debajo de la superficie de la solución de ácido bórico.
2. Agregue 50 ml de NaOH (preparado según el punto cuatro de “Reactivos”) en el tubo de digestión que contenía la muestra digerida y fría y los 80 ml de agua destilada
3. Realice la destilación del digerido mas el agua destilada en el ácido bórico que estuvo colocado en le matraz cónico

Titulación

1. Realice la titulación del destilado que se encuentra en la solución del ácido bórico, con una solución del ácido clorhídrico (preparado según el punto seis de “Reactivos”), después de agregar unas gotas de la solución indicadora (preparado según el punto cinco de “Reactivos”)
2. Leer la cantidad del valorador utilizado (HCl), El punto final se alcanza en la primera traza de color rosa en los contenidos.
3. Registre la cantidad de ácido usado a lo más cercano a 0.05 ml para la prueba en blanco (Vb) y para cada muestra (Vs).

Cálculos

$$\%N = \frac{(Vs - Vb) * M (HCl) * 1 * 14.007}{((W1 - W2) * 10)}$$

Donde

%N = % de Nitrógeno

Vs = ml HCl necesario para valorar la muestra

Vb = ml HCl necesario para la prueba en blanco

M (HCl) = molaridad de HCl

1 = el factor ácido

14.007 = peso molecular de N

10 = conversión de mg / g a%

W = peso de la muestra (g).

$\% \text{ CP} = \% \text{ N} \times \text{F}$ donde

$\text{F} = 6.25$ para todos los forrajes, piensos y piensos mixtos

$\text{F} = 5.70$ para granos de trigo

$\text{F} = 6.38$ para leche y productos lácteos

3.8.4 EXTRACTO ETÉREO

Principio del método

La grasa se extrae de la muestra usando éter de petróleo. El disolvente se destila y el residuo se seca y se pesa, se puede medir con o sin hidrólisis previa con ácido clorhídrico. El uso de hidrólisis previa conduce principalmente a mejores resultados, especialmente para alimentos tratados térmicamente y alimentos de origen animal.

Alcance del método

La determinación de grasa se puede usar para alimentos e ingredientes de alimentos con un contenido de grasa inferior al 20%. Para alimentos con un mayor contenido de grasa, por ejemplo, semillas oleaginosas se recomienda una doble extracción con éter de petróleo.

De lo referido por (Tacón, A., 1989), en los alimentos de origen animal, debido a que una porción substancial de los lípidos está presente en una forma ligada con las proteínas, se requiere de hidrólisis con HCl antes de la extracción con éter.

Equipo y materiales de laboratorio

1. Balanza analítica con precisión a 0.1mg.
2. Aparatos de calefacción con control de temperatura.
3. Dedales de extracción, libres de grasa y lavados con éter
4. Aparatos de calentamiento.
5. Unidad de reflujo.
6. Extractor tipo Soxhlet.
7. Horno de vacío calentado eléctricamente.
8. Desecador.
9. Embudo Buchner conectado a succión.
10. Vaso de precipitación o matraz cónico

Reactivos

1. Éter de petróleo ligero (punto de ebullición 40–60 ° C), purificado para extracción de grasa (es decir, la evaporación del residuo debe ser inferior a 20 mg / litro).
2. Ácido clorhídrico 3 M.
3. Chips de carburo de silicio
4. Vidrio reloj
5. Papel filtro

Procedimiento

Para la determinación de grasa con hidrólisis, proceda primero con la hidrólisis de la siguiente manera:

Hidrólisis

1. Pesar al menos 5 g de la muestra en un vaso de precipitación o matraz cónico y registrar el peso con una precisión de 0.1 mg (W1).
2. Agregar 100 ml de ácido clorhídrico 3 M y chips de carburo de silicio a la muestra y cubrir el vaso de precipitación con un cristal de reloj o coloque el matraz cónico con un condensador de reflujo
3. Llevar la mezcla a ebullición suave sobre un aparato de calentamiento y mantener así durante 1 hora. Mecor cada 10 minutos para evitar que el producto se pegue a los lados del contenedor o matraz cónico.
4. Filtrar la mezcla a través de un papel de filtro doble sin grasa en un embudo Buchner con succión.
5. Lavar el residuo con agua destilada fría hasta obtener un filtrado neutro.
6. Transferir el papel de filtro con el residuo cuidadosamente a un dedal de extracción y secar en un horno de vacío durante 60 minutos a 80 ± 2 ° C
7. Retirar el dedal del horno y cubrir con una torunda de algodón de lana sin grasa.

Extracción

Para la determinación de grasa sin hidrólisis, proceda así:

1. Pesar al menos 5 g de la muestra y registre el peso con una precisión de 0.1 mg (W1), y coloque la muestra en el dedal de extracción y cubrir con una torunda de algodón de lana sin grasa. Este paso solo debe realizarse para la determinación de grasa sin hidrólisis.

2. Transferir algunas virutas de carburo de silicio a un matraz limpio y seco, pese y registre el peso con una precisión de 0.1 mg (W2)
3. Agregue a cada matraz 95 ml de éter de petróleo.
4. Colocar el dedal en el extractor y conectar el matraz seco con el éter de petróleo a la unidad de reflujo.
5. Extraer durante 6 horas con éter de petróleo regulando el aparato de calentamiento para obtener al menos 10 reflujo de extracción por hora. O seguir las instrucciones del fabricante del equipo.
6. Destilar el solvente hasta que el matraz esté casi libre del solvente, a continuación, dejar toda la noche en una campana extractora para garantizar que se evapore todo el solvente
7. Secar el matraz con residuo durante 1,5 horas en un horno de vacío a $80 \pm 2^{\circ} \text{C}$.
8. Enfriar los matraces con el residuo en un desecador, pesar y registrar el peso con una precisión de 0.1 mg (W3).

Cálculos

Porcentaje de grasa cruda con o sin hidrólisis:

$$\%GB = \frac{(W3 - W2) * 100}{(W1)}$$

Dónde

% GB = % de grasa bruta o extracto etéreo

W1 = peso inicial de la muestra en gramos con o sin extracción

W2 = peso del matraz en gramos

W3 = peso del matraz y residuo graso en gramos.

Reportar los resultados notificando si fue realizada con hidrólisis o no

3.8.5 FIBRA CRUDA

Principio del método

La muestra después del desgrasado se trata secuencialmente con ácido sulfúrico diluido en ebullición, y con solución de hidróxido de potasio hirviendo. La pérdida de masa resultante de la incineración corresponde a la masa de fibra cruda.

Alcance del método

1. El método descrito es aplicable para la determinación de alimentos con un contenido de fibra cruda superior al 1%. Si la muestra contiene > 10% de grasa, extraiga la grasa con éter de petróleo antes del análisis inicial
2. La diferencia entre los valores de dos determinaciones paralelas realizadas en la misma muestra no debe exceder de 0.3% en términos absolutos para contenidos inferiores al 10%, y 3% en relación con un valor superior para contenidos iguales o superiores al 10%.
3. Si se encuentran problemas de filtración, se puede usar una capa de arena marina como ayuda para la filtración

Equipo y materiales de laboratorio

1. Balanza analítica con precisión a 0.1mg.
2. Crisoles con filtro de vidrio, P100.
3. Aparatos de calefacción.
4. Equipo de filtración, conectado a un sistema de vacío, por ejemplo, un sistema Fibertec o Labconco
5. Desecador.
6. Horno de secado ventilado, capaz de mantenerse a una temperatura de $103 \pm 2^{\circ} \text{C}$.
7. Horno de mufla, capaz de mantenerse a una temperatura de $550 \pm 20^{\circ} \text{C}$.
8. Vaso de precipitación

Reactivos

1. Éter de petróleo (punto de ebullición 40 a 60°C).
2. Ácido sulfúrico, 0.15 M.
3. Acetona de calidad técnica.
4. Hidróxido de potasio, 0.23 M.
5. Agente antiespumante

Procedimiento

Pretratamiento

1. Para cada crisol P100 pesar 1 g de la muestra y registrar el peso con una precisión de 0.1 mg (W1).
2. Coloque los crisoles en el equipo de filtración y agregue aproximadamente 30 ml de éter de petróleo a cada crisol y filtre usando vacío.
3. Repita el lavado tres veces.
4. Seque el residuo al aire y transféralo cuantitativamente a un vaso de precipitación.

Digestión

1. Añadir a cada vaso de precipitación 150 ml de ácido sulfúrico 0.15 M y hervir durante 30 ± 1 minutos. Si se produce espuma, agregue unas gotas de agente antiespumante.
2. Filtrar la mezcla a través de un crisol con filtro de vidrio usando vacío.
3. Lave el residuo 5 veces, cada vez con 10 ml de agua destilada caliente.
4. Agregue un volumen de acetona para cubrir el residuo. Retirar la acetona después de unos minutos aplicando una ligera succión al vacío.
5. Transfiera el residuo cuantitativamente a un vaso de precipitación.
6. Añadir a cada vaso de precipitación 150 ml de hidróxido de potasio 0.23 M y hervir durante 30 ± 1 minuto.
7. Filtrar la mezcla a través de un crisol con filtro de vidrio usando vacío.
8. Lave el residuo con agua destilada caliente hasta que los enjuagues sean neutros.
9. Lave el residuo 3 veces al vacío, cada vez con 30 ml de acetona, seque el residuo por succión después de cada lavada

Secado e incineración

1. Coloque los crisoles con filtro de vidrio y la muestra digerida en un horno ajustado a 103 ± 2 ° C y seque durante 4.0 horas. El tiempo de secamiento empieza cuando el horno de secamiento (estufa) ha alcanzado los 103 ° C
2. Coloque los crisoles con filtro de vidrio y la muestra digerida y seca en un desecador y deje que se enfríen.
3. Pese los crisoles con filtro de vidrio y la muestra digerida y seca con una precisión de 0.1 mg (W2) después de sacarlo del desecador y registre el peso

4. Coloque los crisoles con filtro de vidrio y la muestra digerida, seca y pesada en un horno de mufla e incinere las muestras por 2 horas a 550 ± 20 ° C. El tiempo de incineración comienza cuando el horno alcanzó 550 ° C.
5. Coloque los crisoles con filtro de vidrio con las cenizas en un desecador y deje enfriar.
6. Pese los crisoles con filtro de vidrio con las cenizas después de sacarlo del desecador con una precisión de 0.1 mg (W3)

Cálculos

$$\%F.C. = \frac{(W2 - W3) * 100}{(W1)}$$

Dónde:

% F.C. = % de Fibra Cruda

W1 = peso de la muestra (g)

W2 = peso de crisol con filtro de vidrio y residuo después del secado (g)

W3 = peso de crisol con filtro de vidrio y cenizas después de la incineración (g)

A continuación se detallan las tablas la composición de diferentes alimentos, concentrados empleados para la elaboración de balanceados, henos de pastos de clima templado y clima tropical por el esquema de Weende o análisis proximal que fueron analizados en el **Laboratorio de Nutrición Animal y Bromatología FCP (ESPOCH)** el transcurso de los años y financiados por diferentes proyectos de investigación entre los más importantes: “Proyecto R.V.V. entre los años 1999 a 2002. Proyecto con FUNDACYT año 2006. Proyecto SENESCYT año 2009 a 2013

3.9 TABLAS DE COMPOSICIÓN NUTRICIONAL DE DIFERENTES MUESTRAS DE FORRAJES, MATERIAS PRIMAS Y ALIMENTOS ECUATORIANOS. LABORATORIO DE NUTRICIÓN ANIMAL Y BROMATOLOGÍA FCP-ESPOCH

Tabla 12. Análisis proximal de concentrados

CONCENTRADOS	CÓDIGOS	Humedad Total %	M.S. Total %	Cenizas %	Materia Orgánica %	Proteína Cruda %	Fibra Cruda %	Extracto Etéreo %	ELN %
Alfarina I (Provincia Chimborazo)	Rp -1234	8,30	91,70	13,90	86,10	21,50	30,80	1,40	32,40
Alfarina II (Provincia Tungurahua)	Rp -1235	7,40	92,60	12,20	87,80	17,40	32,30	2,50	35,60
Alfarina III (Provincia Azuay)	Rp -1248	6,20	93,80	10,70	89,30	18,20	33,70	2,50	34,90
Alfarina IV (Provincia Cotopaxi)	Rp -1473	9,00	91,00	12,80	87,20	19,10	30,30	1,60	36,20
Aceite de palma (Esmeraldas)	Rp - 256	0,55	99,45	0,10	99,90	-	-	99,90	-
Afrecho de trigo Fino (Riobamba)	Rco - 89	8,17	91,83	3,77	96,23	13,76	14,43	4,15	63,90
Afrecho de trigo Fino (Bolívar)	Rco -1384	9,10	90,90	5,21	94,79	16,63	12,24	4,06	61,86
Afrecho de trigo Fino (Cajabamba)	Rco - 4889	6,52	93,48	7,09	92,91	16,84	10,06	5,93	60,08
Afrecho de trigo medio (Riobamba)	Rco - 4990	6,79	93,21	7,11	92,89	12,99	15,56	5,10	59,24
Afrecho de trigo medio (Ambato)	Rco - 551	10,87	89,13	5,16	94,84	17,16	9,94	6,02	61,72
Afrecho de trigo grueso (Azuay)	Rco - 968	10,50	89,50	11,40	88,60	8,30	21,90	1,60	56,80
Afrecho de trigo grueso (Riobamba)	Rco - 4991	5,11	94,89	5,89	94,11	9,23	18,00	4,06	62,82
Avena en grano (Riobamba)	Rco - 647	19,70	80,30	4,30	95,70	8,70	13,40	4,00	69,60
Banano Fresco (Prov. Guayas)	Rco - 255	80,56	19,44	4,96	95,04	3,87	2,83	1,95	86,40
Banano Fresco (Prov. El Oro)	Rf - 948	77,80	22,20	6,30	93,70	4,10	4,70	1,30	83,60
Cebada grano (Chimborazo)	Rco - 635	17,70	82,30	6,50	95,04	9,60	15,20	3,10	65,60
Hna. Banano (Machala)	Rf - 907	6,50	93,50	3,30	96,70	3,90	2,80	0,50	89,50
Hna. Banano (Prov. Guayas)	Rf - 906	9,50	90,50	5,60	94,40	4,00	4,60	1,40	84,40
Higuerilla Torta (Pichincha)	Rco - 686	11,96	88,04	13,33	86,67	44,19	21,12	0,90	20,46
Hna. Pescado Exportación (Manta)	Rco - 43	6,83	93,17	15,19	84,81	64,89	1,46	8,38	10,10
Hna. Pescado Pampa (Portoviejo)	Rco - 44	5,58	94,42	39,24	60,76	12,72	3,51	5,86	38,70
Hna. Pescado Pampa (Manta)	Rpa - 1188	8,90	91,10	35,20	64,80	44,20	7,30	13,20	0,10
Maíz importado (AFABA)	Rco - 40	10,68	89,32	1,74	98,26	7,43	3,15	3,77	83,90
Maíz Nacional (Quevedo)	Rco - 41	10,63	89,37	1,70	98,30	8,04	3,72	4,05	82,50
Maíz Nacional (Ventanas)	Rco - 4098	11,23	88,77	1,64	98,36	9,24	2,74	4,56	81,82
Maíz Nacional (Prov. Los Ríos)	Rco - 666	14,90	85,10	1,60	98,40	9,30	4,10	5,30	79,70
Maíz Nacional (Prov. Guayas)	Rco - 951	14,00	86,00	1,10	98,90	9,70	3,30	1,60	84,30

Maíz Nacional (Prov. Bolívar)	Rco - 04124	11,25	88,75	1,45	98,55	8,92	3,41	4,36	81,86
Maíz Nacional (Prov. Pastaza)	Rco - 04140	13,47	86,53	2,61	97,39	8,45	4,06	4,17	80,71
Maíz Importado (USA)	Rco - 4017	11,23	88,77	1,58	98,42	8,15	2,91	3,43	83,93
Maíz Nacional (Prov. El oro)	Rco - 1437	11,30	88,70	0,90	99,10	9,20	5,20	3,50	81,20
Melaza (Prov. Guayas)	Rp - 257	26,30	73,70	12,64	93,86	6,14	-	0,14	81,10
Palmiste Torta (AFABA)	Rp - 235	6,93	93,07	3,99	96,01	15,23	44,15	1,54	35,10
Palmiste Torta (Esmeraldas)	Rp - 665	5,93	94,07	3,24	96,76	12,24	43,02	6,34	35,16
Pepa de algodón (PROVAB)	Rco - 258	7,87	92,13	3,26	96,74	19,38	35,39	18,07	23,90
Polvillo Fino arroz (Los Rios)	Rco - 1246	9,40	90,60	11,80	88,20	14,30	10,90	18,40	44,60
Polvillo Fino arroz (Ventanas)	Rco - 4986	6,79	93,21	6,00	94,00	12,37	4,54	8,96	68,13
Polvillo Medio arroz (Prov. Guayas)	Rco - 88	8,36	91,64	7,85	92,15	8,79	14,30	9,43	59,60
Polvillo Medio arroz (Prov. Guayas)	Rco - 4987	5,50	94,50	5,15	94,85	11,09	7,80	6,20	69,76
Polvillo grueso arroz (Quevedo)	Rco - 87	8,00	92,00	12,07	87,93	8,96	16,93	13,18	48,90
Polvillo grueso arroz (Esmeraldas)	Rco - 967	10,08	89,92	11,04	88,96	14,04	10,97	14,45	49,50
Polvillo grueso arroz (Sto Domingo)	Rco - 4988	5,89	94,11	3,39	96,61	10,68	13,47	4,14	68,32
Polvillo de avena (Prov. Bolivar)	Rco - 1247	7,30	92,70	3,10	96,90	5,60	29,80	2,90	58,60
Poroto de soya (Canadiense)	Rco - 38	6,75	93,25	5,71	94,29	36,06	5,72	18,84	33,70
Poroto de soya (Americana)	Rco - 4503	8,45	91,55	5,08	94,29	39,81	5,66	19,68	29,77
Semita de trigo 1 (AFABA)	Rco - 315	9,22	90,78	3,87	96,13	15,02	10,78	3,59	66,70
Semita de trigo 2 (Riobamba)	Rco - 543	10,04	89,96	4,38	95,62	18,19	8,90	4,58	64,00
Torta de algodón (AFABA)	Rco - 234	8,17	91,83	6,44	93,56	42,37	14,53	1,50	35,20
Torta soya importada 1 (Boliviana)	Rco - 65	8,14	91,86	6,78	93,22	47,10	8,30	1,69	36,10
Torta soya importada 2 (Boliviana)	Rco - 4141	9,83	90,17	6,93	93,07	47,69	5,23	1,89	38,26
Torta Soya importada (Argentina)	Rco - 4403	10,31	89,69	6,87	93,13	47,98	5,57	2,12	37,46
Torta de soya nacional (Quevedo)	Rco - 39	7,45	92,55	6,90	93,10	45,42	8,12	0,90	38,70
Torta soya nacional (Prov. Guayas)	Rco - 4424	9,98	90,02	6,50	93,50	40,56	7,81	1,49	43,64
Torta de soya importada (Bolivia)	Rco - 829	9,30	90,70	7,30	92,70	47,30	10,50	1,50	33,40
Torta de soya importada (U.S.A.)	Rco - 965	11,30	88,70	6,90	93,10	48,50	6,70	1,60	36,30

(Guevara, P., 2024)

Tabla 13. PASTOS DE CLIMA CÁLIDO (HENOS)

PASTOS DE CLIMA TEMPLADO (HENOS)	CÓDIGOS	Humedad Total %	M.S. Total %	Cenizas %	Materia Orgánica %	Proteína Cruda %	Fibra Cruda %	Extracto Etéreo %	ELN %
Alfalfa 35 días Heno (Cajabamba)	Rp - 361	22,56	77,44	11,13	88,87	28,56	22,25	4,37	33,69
Alfalfa 35 días Heno (Chimborazo)	Rp - 3	9,28	90,72	10,99	89,01	21,67	25,63	2,81	38,90
Alfalfa 35 días Heno (Guamote)	Rp - 70	6,82	93,18	11,58	88,42	23,77	27,45	1,39	35,81
Alfalfa 40 días Heno (Tungurahua)	Rp - 171	7,75	92,25	12,27	87,73	22,94	29,68	1,92	33,20
Alfalfa 42 días Heno (Chimborazo)	Rp - 362	13,83	86,17	9,92	90,08	24,80	29,36	2,87	33,05
Alfalfa 42 días Heno (Chimborazo)	Rp - 6	7,53	92,47	10,45	89,55	19,51	30,95	2,31	36,78
Alfalfa 42 días Heno (Guamote)	Rp - 71	6,79	93,21	10,68	89,32	20,40	30,95	1,26	36,71
Alfalfa 45 días Heno (Riobamba)	Rp - 1004	10,57	89,43	11,25	88,75	21,14	29,49	2,03	36,09
Alfalfa 45 días Heno (Tungurahua)	Rp - 739	15,49	84,51	12,04	87,96	22,12	26,48	1,73	37,63
Alfalfa 46 días Heno (Tungurahua)	Rp - 645	14,95	85,05	11,76	88,24	20,01	31,53	2,48	34,22
Alfalfa 49 días Heno (Chimborazo)	Rp - 9	8,59	91,41	10,26	89,74	18,26	32,06	2,19	37,23
Alfalfa 49 días Heno (Guamote)	Rp - 72	7,34	92,66	10,20	89,80	19,43	31,41	1,45	37,51
Alfalfa 50 días Heno (Calpi)	Rp - 19	8,85	91,15	9,35	90,65	18,78	36,60	1,91	33,40
Alfalfa 50 días Heno (Tungurahua)	Rp - 172	7,76	92,24	12,28	87,72	21,87	38,18	1,53	26,10
Alfalfa 50 días Heno (Chimborazo)	Rp - 426	14,27	85,73	12,57	87,43	20,16	32,48	2,07	32,72
Alfalfa 56 días Heno (Chimborazo)	Rp - 12	8,26	91,74	10,22	89,78	19,81	32,52	2,95	34,50
Alfalfa 56 días Heno (Guamote)	Rp - 73	7,04	92,96	9,75	90,25	18,05	32,68	1,24	38,28
Alfalfa 56 días Heno (Guano)	Rp - 918	9,80	90,20	10,93	89,07	22,07	29,56	2,13	35,31
Alfalfa 60 días Heno (Chambo)	Rp - 173	7,19	92,81	12,06	87,94	20,61	37,92	1,37	28,00
Alfalfa 63 días Heno (Chimborazo)	Rp - 15	8,37	91,63	8,15	91,85	19,09	33,19	2,49	37,08
Alfalfa 63 días Heno (Guano)	Rp - 74	7,65	92,35	8,95	91,05	19,38	36,45	1,43	33,79
Alfalfa 70 días Heno (Chimborazo)	Rp - 18	7,82	92,18	9,59	90,41	19,96	32,48	2,13	35,84
Alfalfa 70 días Heno (Guano)	Rp - 75	7,07	92,93	9,86	90,14	19,63	32,88	1,43	36,20
Alfalfa mezcla (varios tipos) Heno	Rp - 336	8,75	91,25	10,39	89,61	18,73	41,23	1,36	28,30

Avena pasto 42 días Heno (Chambo)	Rp - 883	16,66	83,34	18,93	81,07	13,84	29,84	3,58	33,81
Avena pasto 60 días Heno (San Andrés)	Rp - 646	15,08	84,92	13,25	86,75	11,66	25,24	3,67	46,18
Avena Forrajera 70 Heno(Punín)	Rp - 734	13,69	86,31	11,38	88,62	8,50	36,20	1,53	42,39
Avena Forrajera 100 días Heno	Rp - 1139	8,90	91,10	8,92	91,08	6,93	34,72	1,60	47,83
Avena Forrajera 100 días Heno	Rp - 132	16,38	83,62	11,61	88,39	8,68	39,97	1,26	38,48
Avena Forrajera Heno 105 días	Rp - 311	8,86	91,14	7,50	92,50	7,16	31,86	2,58	50,90
Avena Forrajera Heno 120 días	Rp -133	12,90	87,10	9,88	90,12	5,70	37,46	1,66	45,30
Calcha (Hojas de maíz)	Rp - 358	57,21	42,79	11,69	88,31	9,61	32,76	1,78	44,20
Estipa Heno 70 días	Rp - 193	6,45	93,55	8,21	91,79	11,13	36,29	1,44	42,90
Estipa Heno 75 días	Rp - 919	12,77	87,23	12,78	87,22	11,68	32,48	3,61	39,45
Kikuyo Heno 75 días	Rp - 192	6,08	93,92	12,40	87,60	11,23	33,48	2,53	40,40
Pasto Azul Heno 50 días	Rp – 443	10,15	89,85	12,79	87,21	20,53	27,95	4,43	34,30
Morera Heno	Rp - 385	8,35	91,65	12,61	87,39	14,52	25,48	2,43	45,00
Rye Grass Heno 42 días	Rp - 177	21,34	78,66	16,34	83,66	17,70	27,87	2,82	35,27
Rye Grass Heno 45 días	Rp – 158	6,79	93,21	15,89	84,11	16,55	32,61	1,83	33,10
Rye Grass Heno 49 días	Rp – 185	19,96	80,04	17,48	82,52	17,94	29,30	3,14	32,14
Rye Grass Heno 56 días	Rp – 188	18,91	81,09	16,57	83,43	15,40	32,17	2,71	33,15
Rye Grass Heno 60 días	Rp – 159	7,76	92,24	12,97	87,03	14,59	31,65	2,04	38,80
Rye Grass Heno 63 días	Rp – 194	16,85	83,15	14,78	85,22	13,24	33,98	2,67	35,33
Rye Grass Heno 70 días	Rp – 202	19,61	80,39	15,54	84,46	11,51	34,98	2,43	35,54
Rye Grass Heno 75 días	Rp -160	8,69	91,31	10,00	90,00	9,31	33,83	1,64	45,20
Rye Grass Heno 75 días	Rp - 335	8,15	91,85	9,85	90,15	9,50	32,24	2,78	45,60
Rye Grass Heno 85 días	Rp - 1002	9,19	90,81	8,60	91,40	6,81	34,40	1,16	49,03
Trébol Heno 65 días	Rp - 194	9,72	90,28	8,55	91,45	18,56	24,90	3,18	44,80
Vicia Heno 105 días	Rp - 313	8,66	91,34	6,80	93,20	14,98	32,00	3,97	42,30
Ensilaje de Alfalfa + banano	Rp - 261	77,93	22,07	8,91	91,09	15,01	21,40	3,19	51,49
Ensilaje de avena + melaza	Rp - 256	69,37	30,63	10,16	89,84	9,24	49,78	1,98	28,84
Ensilaje de Calcha sola	Rp - 251	76,78	23,22	8,88	91,12	5,45	33,26	1,51	50,90

Ensilaje de avena 80 días	Rp - 483	80,13	19,87	12,37	87,63	7,32	46,18	6,03	28,10
Ensilaje (hojas de maíz 70% + Alfalfa 30%)	Rp - 424	82,12	17,88	9,47	90,53	9,24	29,01	4,39	47,89
Ensilaje de maíz	Rp - 562	82,04	17,96	7,73	92,27	7,95	30,30	2,09	51,93

(Guevara, P., 2024)

Tabla 14. PASTOS DE CLIMA CALIDO (HENOS)

PASTOS DE CLIMA CALIDO (HENOS)	CÓDIGOS	Humedad Total	M.S. Total	Cenizas	Materia Orgánica	Proteína Cruda	Fibra Cruda	Extract Etéreo	ELN
		%	%	%	%	%	%	%	%
Brachiaria 40 días Heno	Rp - 464	9,43	90,57	6,41	93,59	6,75	41,97	1,81	43,06
Caraca Heno	Rp - 413	7,57	92,43	8,33	91,67	15,44	40,82	1,95	33,46
Elefante 70 días Heno (Sto Domingo)	Rp - 3684	17,74	82,26	14,38	85,62	10,5	38,4	2,1	34,62
Elefante 75 días Heno (Sto Domingo)	Rp - 733	18,06	81,94	14,95	85,05	10,26	35,67	1,68	37,44
Elefante 90 días Heno (Sto. Domingo)	Rp - 821	16,55	83,45	14,4	85,6	8,96	36,91	1,51	38,22
Elefante 90 días Heno (Quevedo)	Rp - 414	7,17	92,83	14,23	85,77	8,64	42,5	1,9	32,7
Gramalote 180 días Heno (Quevedo)	Rp - 415	7,31	92,69	11,32	88,68	8,62	40,12	1,19	38,8
Gramalote 210 días Heno (Sto Domingo)	Rp - 811	6,82	93,18	8,92	91,08	3,84	41,36	1,48	44,4
King Grass 50 días Heno (Sto Domingo)	Rp - 217	6,25	93,75	12,44	87,56	5,67	39,94	0,85	41,1
King Grass 60 días Heno (Sto Domingo)	Rp - 356	17,97	82,03	14,71	85,29	5,99	41,15	1,02	37,1
King Grass 90 días Heno (Sto Domingo)	Rp - 4163	20,94	79,06	13,84	86,16	11,25	33,2	1,74	39,97
Kudzu 45 días Heno (Guayas)	Rp - 384	7,23	92,77	9,39	90,61	23,01	38,42	3,33	25,9
Kudzu 55 días Heno (Guayas)	Rp - 463	9,37	90,63	6,22	93,78	19,38	37,72	3,42	33,3
Kudzu 65 días Heno (Guayas)	Rp - 514	8,69	91,31	5,94	94,06	19,93	43,26	2,31	28,6
Kudzu 75 días Heno (Guayas)	Rp - 3984	15,78	84,22	14,76	85,24	15,15	43,54	2,56	23,99
Maralfalfa 120 días Heno (Puyo)	Rp - 334	8,52	91,48	22,74	77,26	9,64	39,83	0,87	26,9
Maralfalfa 120 días Heno (Quevedo)	Rp - 462	15,37	84,63	17,26	82,74	9,13	39,18	1,23	33,2
Maní forrajero 30 días Heno (Tena)	Rp - 442	10,2	89,8	9,36	90,64	22,15	31,28	4	33,2
Maní forrajero 50 días Heno (Tena)	Rp - 441	9,56	90,44	7,23	92,77	15,16	30,87	1,22	45,5
Saboya 50 días Heno (Sto. Domingo)	Rp - 304	9,26	90,74	18,39	81,61	11,7	45,02	3,31	21,58

Saboya 50 días Heno (Puyo)	Rp - 384	21,42	78,58	13,45	86,55	10,96	46,53	3,22	25,84
Saboya 60 días Heno (Quevedo)	Rp - 3944	17,1	82,9	13,9	86,1	11,2	38,3	2,2	34,4
Saboya 65 días Heno (Quevedo)	Rp - 357	30,52	69,48	12,36	87,64	6,89	46,25	0,74	33,8
Saboya 70 días Heno (Quevedo)	Rp - 161	6,28	93,72	12,05	87,95	5	50,71	1,57	30,7
Tanzania Heno (Quevedo)	Rp - 741	15,64	84,36	15,69	84,31	10,45	38	2,17	33,69
Yuca Ratón 60 días Heno (Tena)	Rp - 383	9,25	90,75	10,31	89,69	22,48	32,97	3,55	30,7
Yuca ratón 70 días Heno (Tena)	Rp - 485	16,5	83,5	8,19	91,81	23,86	27,26	4,83	35,9
Yuca ratón 80 días Heno (Tena)	Rp - 528	2,41	97,59	9,73	90,27	27,97	20,63	4,14	37,5

(Guevara, P., 2024)

3.10 ANALISIS DE LAS PAREDES CELULARES (ESQUEMA DE VAN SOEST)

(McDonald, P., et. al., 1995) ;(Bravo, J., 2006). En los últimos años, el análisis inmediato (análisis proximal o esquema de Weende) de los alimentos ha sido duramente criticado por la mayoría de los nutriólogos, por considerarlo arcaico e inexacto, principalmente el de fibra cruda debido a que no proporciona una representación convincente de la fracción fibrosa digestible de los alimentos, habiendo sido parcialmente sustituido en numerosos laboratorios por otros métodos de análisis. La crítica más dura ha recaído sobre las fracciones correspondientes a la fibra bruta y los extractivos libres de nitrógeno. (Maynard, L., et. al., 1988) El sistema de análisis para la determinación de fibra cruda y de ELN tiene fallas muy serias. Debido a que ELN se determina por diferencia, acumula todos los errores de los otros análisis. Además, el ELN no es el resultado de ninguna determinación en sí, sino que su valor se refiere sólo "a lo que quedó". La fibra cruda es también un término descriptivo de poco valor, y se ha demostrado en muchos casos que la digestibilidad de ésta es mayor que la del ELN en el mismo alimento. En consecuencia, la fibra cruda no separa los carbohidratos en fracciones de mayor o menor digestibilidad. (Van Soest, P., 1963b). Las limitaciones del ampliamente utilizado sistema de Weende para análisis de alimentos han sido reconocido desde el momento en que fue propuesto hace casi un siglo. Las fracciones de fibra cruda y los E.L.N., no representan entidades químicas definibles, y que biológicamente las distinciones entre fibra cruda y extracto libre de nitrógeno (E.L.N.) no son realistas, porque la digestibilidad de la fibra cruda es a veces mayor que la del E.L.N., y la mayor parte de la lignina cae dentro del E.L.N., con los carbohidratos más digeribles. (Nouel, G., 2003) El sistema de valoración de alimentos sustentado en la fibra cruda y el extracto libre de nitrógeno no provee de una visualización ajustada de los carbohidratos de los alimentos, en principio debido a que cantidades variables de hemicelulosa y lignina son solubilizadas en el análisis de fibra cruda. (Jaimes, L., et. al., 2018) durante la primera mitad del siglo XX surgieron diversas opciones metodológicas que pretendían superar las dificultades de la fibra cruda. El uso de soluciones ácidas no era buena alternativa debido a que no remueven completamente las proteínas lo que estaría sobrestimando el contenido de lignina. El hidróxido de sodio, por otro lado, a pesar de la importancia que tenía para la remoción de la

proteína conllevaba a la gelatinización y la remoción parcial de la lignina. **(Maynard, L., et. al., 1988)** Al reconocer este problema, Van Soest y sus asociados idearon un método rápido para dividir los carbohidratos de los alimentos en fracciones relacionadas con su disponibilidad nutricional. Por medio de este método se fraccionan los alimentos en componentes que son muy disponibles, disponibilidad incompleta, y frecuentemente no disponibles.

Por su parte **(Segura, S., et. al., 2007)**, complementa que el pobre estado del análisis de alimentos para animales en los años 60 desencadenó el programa de investigación de Peter van Soest, en el Departamento de Agricultura de los Estados Unidos, el cual condujo al sistema detergente de análisis de alimentos. Van Soest logró convencer a la comunidad científica de remplazar el sistema Weende o de análisis proximal por su sistema detergente. **(Nouel, G., 2003)** Menciona, que este científico (Dr. Peter Van Soest) y su equipo de colaboradores trabajando en la estación del USDA de Beltsville, desarrollaron una técnica rápida para separar los carbohidratos de los alimentos, para diferenciarlos en función de su disponibilidad a las bacterias del rumen. En esencia el método divide en dos fracciones a los alimentos, una es el contenido celular, altamente digestible y conformado por azúcares, almidones, proteínas solubles, pectinas y lípidos; la otra fracción está formada por los elementos de la pared celular y es una fracción de digestibilidad variable, está compuesta por proteína insoluble, hemicelulosa, celulosa, lignina y nitrógeno enlazado a la pared. Por su parte, **(Van Soest, P., 1992)** da a conocer que este trabajo comenzó cuando le contrataron como químico por el Servicio de Investigación Agrícola en 1957, para estudiar la fibra dietética y sus componentes. Los resultados fueron nuevos métodos que tratan de la fibra insolubles. (fibra detergente neutra), la fibra detergente ácido, celulosa y lignina. **(Jaimes, L., et. al., 2018)** Si bien Van Soest no era químico, su propuesta se basó en el uso de detergentes. Conocía la capacidad que tienen algunos detergentes aniónicos de solubilizar proteínas, así como de la propiedad que poseen algunos compuestos de amonio cuaternario para disolver polisacáridos, proteínas y ácidos nucleicos.

Según **(Van Soest, P., 1963a)**, la fibra de los alimentos (forrajes), químicamente estaba constituida por celulosa, hemicelulosa, lignina y una “mínima proporción de nitrógeno”. **(Van Soest, P., 1962)** En una primera publicación este autor, describió la obtención de la

fibra de forrajes luego del reflujo de las muestras por una hora en un detergente ácido. Posteriormente evaluó varias sustancias por su capacidad de solubilizar el nitrógeno en forrajes, tales como el agua, pepsina y bilis de buey, así como una serie de detergentes, incluidos el lauril sulfato de sodio, aril-alquil sulfonato de sodio, cetiltrimetilamonio bromido (hexadecil-trimetil-amonio bromido) y laurilamida en diferentes condiciones de pH y usando diversos compuestos tamponizantes. **(Van Soest P. & Wine, R., 1967)** Posteriormente estandarizó la metodología para la determinación de la fibra en detergente neutro (FDN) presentándola como una opción rápida para estimar el contenido total de la fibra en alimentos de origen vegetal, lo que permitiría separar los nutrientes disponibles de aquellos que son parcialmente disponibles solo por la acción de los microorganismos. Realizó una clasificación de las fracciones de los alimentos groseros al emplear el método de los detergentes.

(Jaimes, L., et. al., 2018) Con el tiempo, la determinación del contenido de fibra basada en la digestión de la muestra con lauril sulfato de sodio, conocida como FDN, se ha constituido en el método más utilizado y recomendado para estimar el contenido de las paredes celulares de los alimentos para animales a tal punto que algunas publicaciones solo aceptan trabajos con esta determinación y algunas han excluido la fibra cruda por considerarla obsoleta. Al igual que la fibra cruda, las fracciones FDN y FDA se refieren a los residuos que quedan luego de someter la muestra a la acción de detergentes en un medio neutro y ácido, respectivamente, por lo que tampoco representan entidades químicas específicas. De acuerdo con **(Segura, S., et. al., 2007)**, remplazando fibra cruda (CF) y extracto libre de nitrógeno por solubles en detergente neutro (NDS), fibra detergente ácida (ADF), fibra detergente neutra (NDF) (las siglas se deben a su nombre en inglés) y lignina, fue posible explicar respuestas nutricionales en términos de digestibilidad y consumo de alimentos. NDS constituye las fracciones completamente digeribles de carbohidratos y proteínas, así como lípidos y algunas cenizas; mientras que NDF representa la fibra estructural, la cual es sólo parcialmente digerible, y lignina es la fracción de NDF completamente indigerible. Pero por lo manifestado por **(Choct, M., 2016)**, manifiesta que la FDN no es una expresión química de las paredes celulares y la FDA no representa la fracción menos digerible de estas; por ello no se pueden considerar determinaciones confiables de la composición de las paredes celulares de los vegetales. Todo lo anterior sugiere que las metodologías de detergentes de

Van Soest no solo no superaron las dificultades planteadas con la fibra cruda, sino que, además, introdujeron nuevas fuentes de error, confusión y vacíos en el análisis químico de los alimentos. **(Jaimes, L., et. al., 2018)** Por una parte al igual que con la fibra cruda, estos métodos han recibido críticas por la pérdida de componentes de la pared celular y por los valores de digestibilidad no esperados entre la fibra en el detergente neutro y en el detergente ácido. Por otro lado por tratarse de métodos proximales (fibra en detergente neutro y fibra en detergente ácido), no se asocian con requerimientos de nutrientes para animales, no corresponden a expresiones nutricionales sino a manifestaciones químicas, por lo cual no se podrían considerar en el nivel de los nutrientes sino de compuestos químicos.

En virtud de ello son limitados sus alcances nutricionales. **(Calsamiglia, S., 1997)**, indica que estos constituyentes del alimento (FDN y FDA), se utiliza como un criterio de la calidad del forraje que es la pieza fundamental en la formulación de raciones. **(Linn, J., & Martin, N., 1989)** Esta estrategia de valoración de forrajes ha estimulado a investigadores de la Universidad de Minnesota a desarrollar un índice de calidad de forrajes: el Valor Relativo de Forrajes (VRF). **(Mertens, D., 1987)** La FND se utiliza como índice de volumen de la ración y supone un límite a la capacidad de ingestión de la ración. Trabajos desarrollados en la Universidad de Wisconsin sugieren que la capacidad de ingestión de los animales se estima como el 1,2% del peso vivo como mínimo en forma de FND. Por encima de este nivel, la FND puede limitar la ingestión de alimentos, y en ningún caso debe superar el 1.4-1.5% del peso vivo.

(Calsamiglia, S., 1997) El Valor Relativo de los Forrajes combina los factores nutricionales más importantes (el potencial de ingestión y su digestibilidad). El potencial de ingestión viene determinado por el contenido de FND según la siguiente fórmula:

$$\text{IMS (\% PV)} = 120/\text{FND (\% MS)}$$

La digestibilidad de la MS se calcula en función del contenido en FAD:

$$\text{DMS (\%)} = 88,9 - (0,779 \times \text{FAD \%})$$

El valor relativo de los forrajes (exceptuando el ensilado de maíz) se calcula como:

$$\text{VRF} = (\text{DMS} \times \text{IMS})/1,29$$

Donde MS = materia seca; IMS = ingestión de MS; DMS = digestibilidad de la MS.

Este valor es un índice y no tiene unidades, pero permite comparar la calidad (entendida como la capacidad de un forraje de producir una respuesta productiva mayor) de

leguminosas, gramíneas y sus mezclas, bien sean en fresco, ensiladas o henificadas. Este sistema de valoración ha sido adoptado oficialmente por el American Forage and Grassland Council como criterio de valoración de la calidad de los forrajes

De acuerdo con (Bach A., & Calsamiglia, S., 2006) la pared celular está compuesta por:

FDN: Incluye la celulosa, hemicelulosa, y lignina (además de residuos de nitrógeno y minerales). Separación de las paredes celulares del contenido celular

FDA: Incluye la celulosa y la lignina (además de residuos de nitrógeno y minerales). Separación de la celulosa y lignina de las paredes celulares

LDA: La lignina se lo determina con ácido detergente en su variante oxidativa. Determinación del porcentaje de lignina

FDN-FDA = Determinación por diferencia del % de Hemicelulosa. (Paquete, N., 1997) La diferencia entre el método neutro y ácido detergente nos da la hemicelulosa, pero existen errores potenciales asociados con esta estimación, por lo que se enfatiza la medición directa de hemicelulosas

FDA-LDA = Determinación por diferencia del % de celulosa

Tabla 15. Clasificación de las fracciones de los alimentos groseros al emplear el método de los detergentes de Van Soest. (Según Van Soest, P.J., 1967)

Fracción	Componentes
Contenido Celular (Soluble en Detergente Neutro)	Lípidos
	Azúcares, ácidos orgánicos y productos hidrosolubles
	Pectinas, almidones
	Nitrógeno No Proteico
	Proteínas solubles
Componentes de la pared celular (fibra insoluble en detergente neutro)	
Solubles en detergente ácido	Hemicelulosa
	Proteína ligada a la fibra
Fibra ácido detergente	Celulosa
	Lignina
	Nitrógeno lignificado
	Sílice

(McDonald, P. *et al* 1995)

3.11 PROCEDIMIENTOS ANALÍTICOS DE LA PARED CELULAR (ESQUEMA DE VAN SOEST)

3.11.1 FIBRA NEUTRA DETERGENTE (F.D.N.)

(McDonald, P., et. al., 1995). La fibra neutro-detergente (FND), que es el residuo que queda tras la extracción, por ebullición, con soluciones neutras de sulfato lauril sódico y ácido etilen diamino tetra acético (EDTA) se compone, principalmente, de lignina, celulosa y hemicelulosa, pudiendo considerarse como una medida del material de la pared de la célula vegetal. (Van Soest, P., et. al., 2020) La fibra detergente neutra describe la porción más recalcitrante desde el punto de vista nutricional de la pared celular de la planta, que está compuesta predominantemente de hemicelulosa y celulosa que pueden ser digeridas por los microbios ruminales y lignina. La lignina es una estructura aromática compleja compuesta de fenilpropanoides unidos a la pared celular por carbohidratos y proteínas. (De Gracia, M., 2011). En este método, con el uso de soluciones detergentes, el forraje se divide en dos fracciones principales, el contenido celular (CC) y la pared celular (PC). De acuerdo con los científicos estas son unidades uniformes, donde el contenido celular, indistintamente del tipo de animal, es totalmente digerible y disponible para su digestión y absorción. En cambio, la pared celular se puede dividir en fracciones donde se pueden aislar e identificar de manera uniforme las fracciones digeribles y las indigeribles, tal como la lignocelulosa. (Nouel, G., 2003) En esta metodología se hace hervir una muestra en una solución detergente neutra, la fracción soluble es el contenido celular (FSDN) y el residuo fibroso insoluble es la pared celular o fibra insoluble en detergente neutro (FND). (Maynard, L., et. al., 1988), en el método al utilizar detergentes se combinan con la proteína para hacerla soluble y se utiliza también un agente quelante (EDTA) para remover los metales pesados y los iones alcalinos contaminantes. Al hervir la muestra con un detergente neutro se solubiliza el contenido de la célula y la pectina dejando un residuo que es la pared celular que contiene la celulosa, hemicelulosa y lignina. (Segura, S., et. al., 2007), da a conocer que en la publicación de Goering y van Soest en 1970 fue la primera descripción detallada del método NDF para uso en el laboratorio. (Bach, A., & Calsamiglia, S., 2006); (De Gracia, M., 2011) El procedimiento se puede utilizar en la mayoría de los forrajes. En este método original se utiliza el sulfito de sodio para eliminar los residuos proteicos adheridos a la fibra. Este reactivo, sin embargo, no elimina completamente los residuos de almidón, de los cereales,

del silo de maíz y heces y se recomienda modificar el proceso utilizando una amilasa para facilitar la filtración durante el análisis.

El almidón puede quedarse como parte del residuo por lo que se puede sobreestimar el contenido de fibra. **(Paquete, N., 1997)** En alimentos ricos en hidratos de carbono como cereales y verduras amiláceas sobreestima la fibra neutro detergente, por ello ha sido necesario modificar esta técnica con el agregado de una alfa amilasa que digiere los hidratos de carbono. **(Goering, M., & Van Soest, P., 1970)**, unos diez años después salió a la luz otra publicación, donde fueron introducidas una serie de variantes para el análisis NDF incluyendo el uso de amilasa, y diez años después, una tercera publicación **(Van Soest, P., et. al., 1991)** presentó cambios adicionales, pero no recomendaba un solo método para todas las muestras de alimentos. **(Uden, P., et. al., 2005)** La dificultad en la extracción y el lavado de los residuos fibrosos en algunos materiales y la variedad de modificaciones sobre el método NDF dieron la percepción de que NDF es difícil de medir con precisión. En los años 80, David Mertens (estudiante del doctorado dirigido por van Soest) inició esfuerzos para estandarizar el análisis NDF en los laboratorios de USA; él afirmaba que la única forma de reducir el error en los laboratorios era esencialmente prescribir un único método analítico para todo tipo de alimentos, porque ya para la época se habían propuesto modificaciones para extender su aplicación a granos, concentrados para animales y alimentos para consumo humano **(Jeraci, J., & Van Soest, P., 1990)**, muchas de las cuales fueron realizadas sin pruebas de desigualdad para determinar su conveniencia para todas las matrices de alimentos o aplicación práctica como métodos de rutina, lo que condujo a métodos para análisis de fibra que aunque diferían entre sí, todos ellos se llamaban NDF. **(McDonald, P., et. al., 1995)**.

El método analítico de la FND, que originalmente se proyectó para los forrajes, puede utilizarse también para los alimentos que contienen almidón, siempre que se incluya en el método un tratamiento con amilasa. **(Mertens, D., 2002)** Los esfuerzos de este científico dieron como resultado algunas recomendaciones y finalmente, después de un largo proceso, salió una publicación de aprobación del método NDF por la AOAC en el 2002 con el uso de α amilasa para la remoción del almidón en alimentos altos en este constituyente y disolver proteínas sobre una base libre de cenizas. Por lo anteriormente citado **(Bach, A., &**

Calsamiglia, S., 2006), dan a conocer que la fibra neutro detergente (FND) representa el residuo que se obtiene tras un lavado del ingrediente usando una solución neutro detergente. La FND incluye celulosa, hemicelulosa, y lignina (además de residuos de nitrógeno y minerales).

(Paquete, N., 1997) La ventaja de este método FDN es que permite determinar la Fibra Insoluble por un método relativamente simple. La gran desventaja es que la Fibra Soluble se pierde, además se ha encontrado que subestima la Fibra Insoluble en algunos alimentos como la soya y papa, por la disolución de complejos proteína-fibra.

Principio del Método en la determinación de FDN

El procedimiento neutro detergente para determinar los componentes de la pared celular es un método rápido para fibra total en alimentos fibrosos vegetales. Aparentemente divide la materia seca al punto de que separa a los constituyentes nutricionales solubles o que dependen de la fermentación microbiológica para su aprovechamiento. Este método no puede aplicarse a los alimentos que tienen alto contenido de proteína y bajo en fibra.

Equipo

1. Balanza analítica
2. Equipo de reflujo LABCONCO, el mismo utilizado para fibra cruda por el sistema Weende, constituido por:
 3. Placas calentadoras con control individual de temperatura
 4. Condensadores
 5. Equipo de filtración, constituido por:
 - a. Un matraz kitasatos
 - b. Una trampa de vacío
 - c. Manguera
 - d. Desecador con silica gel como desecante

Materiales

1. Crisoles filtrantes tipo gooch N.7 o de mayor capacidad
2. Incubadora a 37°C.
3. Vasos de precipitación de 600 ml. sin pico tipo alto
4. Probetas de 100 ml.
5. Pipetas de 1 ml.

6. Pipetas de 0.05 ml. (50 ul)
7. Reloj para laboratorio
8. Estufa con control de temperatura a 105°C
9. Sistema para tener agua destilada caliente constantemente
10. Papel aluminio

Reactivos

Solución Detergente Neutro

1. Sulfato de Lauril sódico (SLS) p.a. ($C_{12}H_{25}NaO_4S$)-30.00 g
2. EDTA 2 H₂O p.a. (ácido etilendiamino tetra acético, sal disódica, 2-hidrato) ($C_{10}H_{14}N_2Na_2O \cdot 2 H_2O$)-18.61 g
3. Fosfato de Sodio dibásico anhídrico (Na_2HPO_4)-4.56 g
4. Tetraborato de sodio 10-hidrato p.a ($Na_2B_4O_7 \cdot 10H_2O$)-6.81 g
5. Etilenglicol p.a. ($C_2H_6O_2$)-10.00 g

Otros reactivos

1. Decahidro naftaleno grado técnico (decalín) ($C_{10}H_{18}$)
2. Acetona p.a. (CH_3COCH_3)
3. Sulfito de Sodio anhidro p.a. (Na_2SO_3)
4. Alfa amilasa estable al calor (A3306 Sigma-Aldrich Co., St. Louis. USA)

Preparación de la solución detergente neutro.

1. Solubilizar en unos 100 ml. de agua destilada los 30 g. de SLS y añadir los 10 ml. de etilenglicol.
2. Poner EDTA y $Na_2B_4O_7$ en un vaso de precipitación, añadir agua, calentar agitando hasta disolver y agregar a la solución de SLS y etilenglicol.
3. Disolver en agua el Na_2HPO_4 calentando y agitando la solución añadir a la solución que contiene los demás reactivos.
4. Aforar la solución a 1 litro de un balón volumétrico.
5. Comprobar que el pH de la solución este en un rango de 6.9 a 7.1
6. Lana de vidrio grado para análisis.

Procedimiento

1. Pesar por diferencia utilizando el papel aluminio alrededor de 1 gr. de muestra (peso A) con una precisión de + 0,0001 g y ponerla en los vasos de precipitación de 600 ml.
2. Añadir a cada vaso de precipitación los reactivos en el siguiente orden. Solución detergente neutro 100 ml. decalín 2 ml. sulfito de sodio 0.5 g
3. Para alimentos que contengan más de 100 g de almidón por kg de materia seca, como los residuos de almidón, de los cereales, del silo de maíz y heces, o en alimentos ricos en hidratos de carbono como cereales y verduras amiláceas se debe añadir 0.05 ml de alfa amilasa estable al calor (en el caso de pastos no es necesario)
4. Acondicionarlos vasos en el equipo de reflujo LABCONCO y calentar hasta que la mezcla comience a hervir.
5. Reducir la temperatura una vez que se consigue la ebullición para evitar la formación de espuma y tomar el tiempo.
6. Mantener la digestión durante 60 minutos exactos
7. Agitar periódicamente los vasos de precipitación para mantener las partículas en suspensión.
8. Pasar la solución cuantitativamente a los crisoles de gooch, que contienen lana de vidrio y están previamente tarados (peso B), utilizando el equipo de filtración.
9. Lavar el residuo de los crisoles con, por lo menos 1000 ml. de agua destilada caliente (alrededor de 90 °C.) de lo contrario se obtienen resultados altos.
10. Lavar finalmente dos veces con acetona y secar por succión utilizando el equipo de filtración.
11. Lavar nuevamente con 500 ml de agua destilada caliente, manteniéndose una succión baja para evitar que se compacten los materiales a filtrarse.
12. Colocar los crisoles de Gooch con la muestra digerida y lavada en la estufa durante una noche a 105 °C.
13. Ubicar los crisoles de Gooch en el desecador por 30 minutos para su enfriamiento.
14. Pesar los crisoles de Gooch con la muestra digerida y seca (peso C).

Cálculos

$$\%FDN PS = \frac{PesoC - PesoB}{PesoA} \times 100$$

Donde:

$\%FDN PS = \% \text{ Fibra Detergente Neutro base Parcialmente Seca}$

Peso A = Peso de la Muestra

Peso C = Peso del Crisol más muestra

Peso B = Peso del papel más residuo

$$\%FDN BS = \frac{\% FDN PS * 100}{\% \text{ de Materia seca Parcial}}$$

Donde:

$\% FDN BS = \% \text{ Fibra Detergente Neutra en Base Seca}$

$\%FDN PS = \% \text{ Fibra Cruda en Base Parcialmente Seca (PS)}$

$\% \text{ de Materia Seca Parcial} = 105^{\circ} C = 100 - \% \text{ Agua}$

3.11.2 DETERMINACIÓN DE FIBRA DETERGENTE NEUTRA MÉTODO ANKOM

Equipos

1. Balanza analítica
2. Sellador de filters bags
3. Desecador
4. Determinador de fibra ANKOM (mismo utilizado para determinar fibra cruda), con un tanque interior (Vesel)
5. Estufa

Materiales

1. Filters bags Ankom F57 (fundas para fibra)
2. Canastillas de 9 bloques para tres bags en cada uno
3. Capsula hidromática
4. Probeta de 2000 ml

5. Toallas absorbentes
6. Marcadores para filters bags

Reactivos

Solución Detergente Neutro

1. Sulfato de Lauril sódico (SLS) p.a. ($C_{12}H_{25}NaO_4S$)-30.00 g
2. EDTA 2 H_2O p.a. (ácido etilendiamino tetra acético, sal disódico, 2-hidrato) ($C_{10}H_{14}N_2Na_2O \cdot 2 H_2O$)-18.61 g.
3. Fosfato de Sodio dibásico anhidrico p.a. (Na_2HPO_4)-4.56 g
4. Tetraborato de sodio 10-hidrato p.a ($Na_2B_4O_7 \cdot 10H_2O$)-6.81 g
5. Etilenglicol p.a. ($C_2H_6O_2$)-10.00 g.
6. Alfa-amilasa estable al calor (A3306 Sigma-Aldrich Co., St. Louis. USA)
7. Acetona p.a. (CH_3COCH_3)
8. Sulfito de Sodio anhidro p.a. ($Na_2 SO_3$).
9. Lana de vidrio grado para análisis.

Preparación de la solución detergente neutro

1. Solubilizar en unos 100 ml. de agua destilada los 30 g. de SLS y añadir los 10 ml. de etilenglicol.
2. Poner EDTA y $Na_2B_4O_7$ en un vaso de precipitación, añadir agua, calentar agitando hasta disolver y agregar a la solución de SLS y etilenglicol.
3. Disolver en agua el Na_2HPO_4 calentando y agitando la solución añadir a la solución que contiene los demás reactivos.
4. Aforar la solución a 1 litro de un balón volumétrico.
5. Comprobar que el pH de la solución este en un rango de 6.9 a 7.1

Procedimiento

1. Codificamos con el marcador las fundas F57 correspondientes a cada muestra.
2. Colocamos los filter bags F57 en la estufa a 105 °C, durante 12 horas.
3. Transcurrido este lapso, llevamos al desecador durante media hora por lo menos para su enfriamiento.
4. Pesamos la funda y anotamos su peso

5. Homogenizamos la muestra problema y pesamos aproximadamente 0,5 g. con una precisión de 0,1 mg en papel aluminio.
6. Procedemos a colocar la muestra en las fundas.
7. Pesamos el papel aluminio con el sobrante de la muestra, registramos el peso.
8. Pesamos la funda más la muestra y anotamos el peso.
9. Sellamos las fundas a una distancia de 0,5 cm y homogenizamos.
10. Desengrasar las muestras con acetona durante 8 horas cada 60 minutos, agitando 3 veces, comprimiendo y cambiando el solvente cada vez.
11. Dejar al ambiente para evaporar el solvente por lo menos durante 1 hora.
12. Ubicar las fundas en la canastilla (3 en cada una) de manera que la última quede vacía.
Nota: Las fundas deben ser mínimo 15 y máximo 24 para poder utilizar el equipo.
13. Colocar en el equipo la solución de fibra neutro detergente (1900 a 2000 ml), dentro del vesel. Mínimo debe colocarse 1500 ml de solución (15 bags).
14. Añadir 20 g de Sulfito de sodio a la solución que se encuentra en el Vesel.
15. Añadir 4 ml de alfa – amilasa. estable al calor (A3306 Sigma-Aldrich Co., St. Louis. USA), esto en el caso que los alimentos contengan más de 100 g de almidón por kg de materia seca, como los residuos de almidón, de los cereales, del silo de maíz y heces, o en alimentos ricos en hidratos de carbono como cereales y verduras amiláceas
16. Colocamos la canastilla en el equipo con las fundas que contienen la muestra y cuidadosa y lentamente la sumergimos ayudados con la pesa incluida en el equipo.
17. Comprobamos la agitación del equipo.
18. Cerramos el equipo y programamos de acuerdo con las indicaciones (90 °C y 75 minutos).
19. Transcurrido este tiempo, apagar la agitación y el calor en el equipo.
20. Abrimos la válvula de drenaje reduciendo la presión para posteriormente abrir la tapa.
21. Realizamos seis lavados con 2000 ml de agua destilada a 100 °C, calentada aparte, durante 5 minutos cada vez encendiendo el botón de agitación, pero no el de calentamiento ni cerrando la tapa, abriendo cada vez la válvula de salida de líquido. Para el primero y segundo lavado añada 4 ml de alfa – amilasa.
22. Cerramos la válvula de salida del líquido del equipo.

23. Una vez terminado el proceso de lavado sacamos las muestras de la canastilla y comprimiendo extraemos el agua, si al hacerlo sale espuma colocamos nuevamente las fundas en el equipo y lavamos 2 o 3 veces más.
24. Luego las colocamos en la plancha para eliminar el máximo de humedad.
25. Volvemos a desengrasar dos veces durante 60 minutos con acetona y agitando durante 5 minutos cada vez
26. Evaporamos el solvente por una hora. Nota: no coloque los bags dentro de la estufa hasta q la acetona haya sido completamente evaporada.
27. Colocamos las muestras dentro de la estufa a 105 °C durante 12 horas.
28. Retiramos las muestras de la estufa y las colocamos en un desecador durante 30 minutos, y procedemos a pesar.

Cálculos

$$\%FND PS = \frac{(W3 - (W1 \times C1))}{W2} \times 100$$

Donde:

$\% FND PS$ = % de FND en base Parcialmente Seca

W1= peso de la funda tarada

W2= peso de la muestra

W3= peso después del proceso de extracción

C1= Blanco corrección de la funda (peso final secado en la estufa/peso original de la funda blanco)

$$\%FND BS = \frac{\% FND PS * 100}{\% de Materia seca Parcial}$$

Donde:

$\% FND BS$ = % Fibra Neutro Detergente en Base Seca

$\%FND PS$ = % Fibra Neutro Detergente en Base Parcialmente Seca (PS)

$\% de Materia Seca Parcial$ = 105° C = 100 - % Agua

3.11.3 DETERMINACIÓN DE LA FIBRA ACIDO DETERGENTE (FAD)

(Paquete, N., 1997). Este método consiste en someter la muestra a ebullición con de Cetil Trimetil Amonio Bromuro (CTAB), en medio ácido y subsecuente filtración y lavado del residuo. Este método da una buena estimación de celulosa y lignina. En el residuo se puede

analizar la celulosa o lignina. **(Van Soest, P., 1963b)** La capacidad del CTAB para disolver proteínas en solución ácida, se ha utilizado en el desarrollo de este método, llamado fibra ácido detergente (FAD), la cual no es sólo una determinación de fibra en sí misma, sino también el principal paso preparatorio la determinación de la lignina. Este último residuo (FAD) sería el material de partida más adecuado para el análisis de lignina, ya que la porción de la hemicelulosa habría sido eliminada. **(Maynard, L., et. al., 1988)** Por ebullición con un detergente ácido, se hidroliza la hemicelulosa que se encuentra libre y aquella que está combinada con la lignina, dejando la celulosa y la lignina como fibra detergente acida. **(McDonald, P., et. al., 1995)** La FAD es el residuo que está formado esencialmente por las fracciones brutas de lignina y celulosa del material vegetal, aunque también incluye sílice, **(Calsamiglia, S., 1997)** además de residuos de nitrógeno y minerales, **(Segura, F., et. al., 2007)** cantidades variables de xilanos y otros componentes, teniendo limitaciones del método en donde una porción significativa de la lignina es solubilizada, **(Jaimes, L., et. al., 2018)** y una agrupación que recoge diversos compuestos (nitrógeno lignificado, taninos, cutina), es por eso por lo que **(Van Soest, P., et al. 1991)** sugieren correcciones como en el caso de la FND, para el contenido en nitrógeno y cenizas y que es necesario llevar a cabo una determinación secuencial de FND, FAD y lignina que permite un cálculo más preciso del contenido de celulosa y hemicelulosa, pero el método no secuencial es más adecuado para la determinación de cenizas ácidas insolubles, taninos y nitrógeno insoluble en FAD.

Por su parte **(Bach, A., & Calsamiglia, S., 2006)**, manifiestan que es importante en la determinación de la FAD se realice sobre el residuo de la FND, es decir, de forma secuencial, de lo contrario los valores de la FAD pueden estar sobreestimados debido a la presencia de residuos de pectinas y otros compuestos que son solubilizados en la FND, pero no en la FAD. **(Guaita, M., 2014)**. Por lo tanto, la hemicelulosa se calcula por la diferencia entre la FND y la FAD. La FAD se correlaciona inversamente con la digestibilidad, **(McDonald, P., et. al., 1995)** y es especialmente útil en el caso de los forrajes, ya que existe una buena correlación estadística entre ella y la digestibilidad.

(De Gracia, M., 2011) Este procedimiento utiliza un detergente catiónico en una solución de H_2SO_4 que disuelve o remueve los carbohidratos lábiles, proteína que no está ligada por la reacción de Maillard y lípidos. Se da una limitación en la acción de la solución detergente ácido cuando la muestra posee un contenido de lípidos superior al 5%, por lo que se

recomienda la extracción de la muestra cuando se excede este porcentaje. La lignina presente en esta fracción (FAD), no es digerida, por lo que la fracción la constituye lo que se conoce como lignocelulosa. En esta fracción queda retenida igualmente proteína ligada y sílice. La proteína ligada es aquella que en el caso de productos vegetales y de origen animal se ha dañado por efecto del calor al cual fue sometido el producto durante su procesamiento. **(Van Soest, P., 1963a) (Van Soest, P., 1963b) (Segura, F., et. al., 2007)** El método para FAD. fue dado a conocer en 1963 con la primera publicación que realmente describía el sistema de análisis detergente. La F.A.D. rápidamente remplazó a fibra cruda en muchos laboratorios porque era un método más simple y daba valores similares en muchos forrajes. El procedimiento de FAD fue aprobado por (AOAC) y no fue difícil estandarizarlo en los laboratorios. Hoy en día el principal uso de ADF es preparar un residuo bajo en proteína para el posterior análisis de lignina. **(Jaimes, L., et. al., 2018)** En ciertas ocasiones genera resultados inesperados como por ejemplo que el valor de la FDA sea superior al de la FDN; esta situación se ha presentado por ejemplo en pulpas de frutas (naranja, manzana, uva) y de remolacha o cuando se analizan algunas hojas de leguminosas. Por otro lado, varios trabajos han demostrado, sin embargo, que el método de FAD conlleva pérdidas significativas de celulosa que pueden superar las pérdidas presentadas en la “fibra cruda” **(Mika, V., 1981)**, así como pérdidas significativas de lignina **(Fukushima, R., et al 2015)**, con lo que se estaría subestimando el contenido de esta fracción química. **(Putnam, D., et al 2008)** Por otro lado, no obstante que se presume que la FDA recoge los componentes menos digeribles de las paredes celulares. De hecho, algunos autores han recomendado abandonar el uso de la FAD como indicador de la calidad nutricional en algunos forrajes por considerarla igualmente obsoleta. **(Godin, B., et al 2011)** El uso de métodos analíticos más precisos como la cromatografía líquida aplicada al residuo del detergente neutro ha demostrado que los métodos de Van Soest sobreestiman el contenido de celulosa y hemicelulosa debido posiblemente a la presencia de proteínas en la FDN y a la pérdida de lignina en la FDA

Principio

Este procedimiento permite una rápida determinación de la lignocelulosa en los alimentos. Sin embargo, en esta fracción también aparece el Sílice. La diferencia entre el valor de las paredes celulares de la fibra ácida detergente da una estimación del valor de la Hemicelulosa, ya que esta diferencia también incluye una fracción de proteína adherida a las paredes

celulares. El método de fibra por ácido detergente también emplea como paso preliminar en la determinación de la lignina.

Equipo

1. Balanza analítica capacidad de 100 g y precisión de 0.1 mg
2. Equipo de reflujo LABCONCO, el mismo utilizado para fibra cruda, por el sistema de Weende, constituido por:
 - Placas calentadoras con control individual de temperatura
 - Condensadores de bola
3. Equipo de filtración, constituido por:
 - Un matraz kitasatos
 - Una trompa de vacío
 - Manguera

Materiales

1. Vaso de precipitación de 600 ml. sin pico, tipo a alto
2. Probetas de 1 ml.
3. Pipetas de 1 ml.
4. Crisoles filtrantes (crisoles de gooch) N.7 o de mayor capacidad
5. Reloj de laboratorio
6. Estufa con control de temperatura a 105° C
7. Desecador con silica gel como desecante
8. Sistema para tener agua destilada caliente constantemente
9. Papel aluminio

Reactivos

1. Solución Detergente Acida H_2SO_4 : 1N
2. Cetil Trimetil Amonio Bromuro (CTAB) p.a - 20.00 g
3. Decahidronaftaleno grado técnico (decalín) ($C_{10}H_{15}$)
4. Lana de vidrio grado para análisis
5. Acetona

Preparación de la solución detergente Acido:

1. Pesar 20 g. de CTAB

2. Preparar un litro de H_2SO_4 1N. Utilice 27.7 ml de H_2SO_4 de densidad 1.84 y 97% de concentración grado p.a.
3. Colocar en un recipiente de vidrio el CTAB y el H_2SO_4 agitar hasta disolver

Procedimiento

1. Pesar por diferencia utilizando el papel aluminio, alrededor de 1g. de muestra con una precisión de + 0.0001 g (peso A), y ponerla en los vasos de precipitación de 600 ml.
2. Añadir a cada vaso de precipitación 100 ml. de solución detergente ácido y 2ml. de decalín.
3. Acondicionar los vasos de precipitación de 600 ml. en el equipo de reflujo LABCONCO y calentar hasta que la mezcla comience a hervir.
4. Reducir la temperatura una vez que se consigue la ebullición, para evitar la formación de espuma y tomar el tiempo.
5. Mantener la digestión durante 60 minutos exactos.
6. Agitar periódicamente los vasos de precipitación para mantener las partículas en suspensión.
7. Pasar cuantitativamente la solución a los crisoles de Gooch que contienen lana de vidrio y están previamente tarados y pesados (peso B), utilizando el equipo de filtración.
8. Lavar el residuo de los crisoles con unos 500 ml de agua destilada caliente, (alrededor de 90°C). De lo contrario se obtienen resultados altos.
9. Lavar finalmente con acetona dos veces y secar por succión utilizando el equipo de filtración.
10. Al principio se realiza la filtración con succión suave para evitar que se compacten los materiales que se filtran.
11. Colocar los crisoles de gooch con la muestra digerida en la estufa durante una noche a 105 °C.
12. Ubicar los crisoles de Gooch en un desecador por 30 minutos para su enfriamiento.
13. Pasar los crisoles de Gooch con la muestra digerida y seca (Peso C).
14. Reservar este residuo para la determinación de Lignina acido detergente.

Cálculos

$$\%FAD PS = \frac{(W3 - (W1 \times C1))}{W2} \times 100$$

Donde:

$\% FDN PS$ = % de FDN en base Parcialmente Seca

W1= peso de la funda tarada

W2= peso de la muestra

W3= peso después del proceso de extracción

C1= Blanco corrección de la funda (peso final secado en la estufa/peso original de la funda blanco)

$$\%FAD BS = \frac{\% FAD PS * 100}{\% de Materia seca Parcial}$$

Donde:

$\% FAD BS$ = % Fibra Acido Detergente en Base Seca

$\%FAD PS$ = % Fibra Acido Detergente en Base Parcialmente Seca (PS)

$\% de Materia Seca Parcial = 105^{\circ} C = 100 - \% Agua$

3.11.4 DETERMINACIÓN DE FIBRA DETERGENTE ACIDA MÉTODO ANKOM

Equipos

1. Balanza analítica
2. Sellador de Filters bags
3. Desecador
4. Determinador de fibra ANKOM (mismo equipo utilizado para fibra cruda)
5. Estufa

Materiales

1. Filters bags Ankom F57 (fundas para fibra)
2. Canastillas de 9 bloques para tres bags en cada uno
3. Capsula hidromática
4. Probeta de 2000 ml
5. Toallas absorbentes

Reactivos

1. Solución Detergente Acida H_2SO_4 : 1N
2. Cetil Trimetil Amonio Bromuro (CTAB) p.a - 20.00 g
3. Decahidronaftaleno grado técnico (decalín) ($C_{10}H_{18}$)
4. Lana de vidrio grado para análisis
5. Acetona

Preparación de la solución detergente Acido:

1. Pesar 20 g. de CTAB
2. Preparar un litro de H_2SO_4 1N. Utilice 27.7 ml de H_2SO_4 de densidad 1.84 y 97% de concentración grado p.a.
3. Colocar en un recipiente de vidrio el CTAB y el H_2SO_4 agitar hasta disolver

Procedimiento

1. Codificamos las fundas F57 correspondientes a cada muestra.
2. Colocamos los filter bags F57 en la estufa a 105 °C, durante 12 horas.
3. Transcurrido este lapso, llevamos al desecador durante media hora por lo menos para su enfriamiento.
4. Pesamos la funda y anotamos su peso
5. Homogenizamos la muestra problema y pesamos aproximadamente 0,5 g. con una precisión de 0,1 mg en papel aluminio.
6. Procedemos a colocar la muestra en las fundas.
7. Pesamos el papel aluminio con el sobrante de la muestra, registramos el peso.
8. Pesamos la funda más la muestra y anotamos el peso.
9. Sellamos las fundas a una distancia de 0,5 cm y homogenizamos.
10. Desengrasar las muestras con acetona durante 8 horas cada 60 minutos, agitando 3 veces, comprimiendo y cambiando el solvente cada vez.
11. Dejar al ambiente para evaporar el solvente por lo menos durante 1 hora.
12. Ubicar las fundas en las canastillas (3 en cada una) de manera que la última quede vacía. Nota: Las fundas deben ser mín. 15 y max. 24 para poder utilizar el equipo.

13. Colocar en el equipo la solución de fibra ácido detergente (1900 a 2000 ml), dentro del vessel. Mínimo debe colocarse 1500 ml de solución (15 bags).
14. Colocamos la canastilla en el equipo con las fundas que contienen la muestra y cuidadosa y lentamente la sumergimos ayudados con la pesa incluida en el equipo.
15. Comprobamos la agitación del equipo.
16. Cerramos el equipo y programamos de acuerdo a las indicaciones (90 °C y 60 minutos).
17. Transcurrido este tiempo, apagar la agitación y el calor en el equipo.
18. Abrimos la válvula de drenaje reduciendo la presión para posteriormente abrir la tapa.
19. Realizamos seis lavados con 2000 ml de agua destilada a 100 °C, calentada aparte, durante 5 minutos cada vez encendiendo el botón de agitación, pero no el de calentamiento ni cerrando la tapa, abriendo cada vez la válvula de salida de líquido. El lavado debe realizarse hasta conseguir un pH neutro, de no ser el caso, repetir el lavado.
20. Cerramos la válvula de salida del líquido del equipo.
21. Una vez terminado el proceso de lavado sacamos las muestras de la canastilla y comprimiendo suavemente extraemos el agua.
22. Luego las colocamos en la plancha para eliminar el máximo de humedad.
23. Volvemos a desengrasar dos veces durante 60 minutos con acetona y agitando durante 5 minutos cada vez.
24. Evaporamos el solvente por una hora. Nota: no coloque los bags dentro de la estufa hasta que la acetona haya sido completamente evaporada.
25. Colocamos las muestras dentro de la estufa a 105 °C durante 12 horas.
26. Retiramos las muestras de la estufa y las colocamos en un desecador durante 30 minutos, y procedemos a pesar.

Cálculos

$$\%FDA PS = \frac{(W3 - (W1 \times C1))}{W2} \times 100$$

Donde:

% FDA PS = % de Fibra Detergente Ácida en base Parcialmente Seca

W1= peso de la funda tarada

W2= peso de la muestra

W3= peso después del proceso de extracción

C1= Blanco corrección de la funda (peso final secado en la estufa/peso original de la funda blanco)

$$\%FAD\ BS = \frac{\%FAD\ PS * 100}{\%de\ Materia\ seca\ Parcial}$$

Donde:

$\%FAD\ BS$ = % Fibra Acido Detergente en Base Seca

$\%FAD\ PS$ = % Fibra Acido Detergente en Base Parcialmente Seca (PS)

$\%de\ Materia\ Seca\ Parcial = 105^{\circ}C = 100 - \%Agua$

Lignina Acida Detergente (LAD)

(Maruelli, J., 2017) Lignina no es un carbohidrato, pero por su vinculación desde el punto de vista estructural de la planta y su influencia en las funciones fisiológicas mencionamos de ella. Es una sustancia amorfa, no bien definida químicamente originada por la polimerización tridimensional de diversos compuestos como el ácido fenólico p-cumárico y el ácido difenílico metaxilados. (Guaita, M., 2014) Es una sustancia compleja, formada por polímeros de ácidos fenólicos. Se une en enlaces cruzados a la celulosa y a la hemicelulosa para conferir rigidez estructural a la pared celular, a medida que las plantas maduran. Es completamente indigestible y es considerado un componente de anti-calidad. Su presencia restringe el acceso de los microorganismos a la celulosa y a la hemicelulosa y por lo tanto reduce la tasa y la extensión de la digestión. (Van Soest, P., et. al. 2020) La lignina es una estructura aromática compleja compuesta de fenilpropanoides unidos a la pared celular carbohidratos y proteínas. En la nutrición de rumiantes, la lignina se ha correlacionado negativamente con la digestibilidad de la fibra en los alimentos. (Gaggiotti, M et al 1996), es un compuesto de la pared celular que dificulta la accesibilidad de los microorganismos del rumen a la celulosa y la hemicelulosa, limitando la digestibilidad de esos componentes. (Maruelli, J., 2017) La lignina ejerce un efecto negativo directo sobre la digestión total y efecto indirecto de impedimentos físicos que limitan el acceso de las bacterias a las zonas degradables de la fibra. La concentración depende de la especie de forraje y del estado vegetativo, mayor madurez más lignina. Es el soporte estructural de la pared celular de las plantas, contiene uniones química resistentes al ataque de las bacterias del rumen. (Bach,

A., & Calsamiglia, S., 2006) además tiene un efecto indirecto consecuencia de impedimentos físicos que limitan el acceso de las bacterias a las zonas degradables de la fibra. Este efecto indirecto es más evidente en las gramíneas que en las leguminosas, pues las gramíneas tienen un mayor contenido de ácidos fenólicos. La concentración de lignina depende de la especie de forraje, siendo mayor en las leguminosas que en las gramíneas, y del estado vegetativo (a mayor madurez más lignina).

(De Gracia, M., 2011) Luego de la determinación de la fibra detergente ácido, uno de los componentes de esta fracción lo constituye la lignina. La lignina se determina al disolver u oxidar el componente orgánico de la fracción detergente ácido con una solución de H_2SO_4 al 72% por peso o una solución de $KMnO_4$. Según **(Bach, A., & Calsamiglia, S., 2006)** El análisis de lignina puede realizarse de dos formas: la lignina ácido detergente (LAD) en su variante oxidativa (con permanganato potásico), o la lignina Klason, con una digestión en dos fases con ácido sulfúrico. De acuerdo con **(Van Soest, P., et. al. 2020)** los dos análisis empíricos más comunes de lignina aplicados en nutrición son la lignina de Klason (LK) y la lignina ácida detergente (LAD). El análisis KL fue desarrollado por el químico de la madera Johan Peter Klason como una medida de la lignina total para su aplicación a la madera y a las pulpas utilizadas para la producción de papel. **(De Gracia, M., 2011)** La acción del ácido (LAD), da como resultado la celulosa y cenizas como residuos, las que al ser incineradas nos da el valor de la lignina. **(Maynard, L., et. al., 1988)** La oxidación de la lignina con $KMnO_4$, deja sólo la celulosa y ceniza como residuo las que al ser incineradas nos da el valor de la celulosa. Este método lignina por permanganato **(Segura, F., et. al., 2007)**, son susceptibles a la solubilización incompleta de la lignina o a interferencias por otros componentes de la pared celular que se pueden solubilizar. Además, cada vez existe más evidencia de que el subestimado del valor de la lignina debido a la solubilización de algunas ligninas en el paso anterior de FAD. De igual manera una de las principales limitaciones para el análisis de LDA especialmente de pastos y forrajes específicamente al analizar FAD, una parte considerable de lignina es solubilizada, especialmente en pastos; no se conoce a qué estructuras corresponde exactamente esa parte de lignina soluble, ni las estructuras de lignina que quedan después del proceso de degradación son más o menos solubles que las estructuras de lignina que existen en los pastos sin biodegradar. También al calcular celulosa restando la FAD–LAD se corre el riesgo de sobreestimar los valores porque

se puede solubilizar en mayor proporción parte de la lignina dando como resultado valores más bajos de LAD y, por lo tanto, valores más altos de celulosa. Lo anterior sugiere que se deben utilizar otros métodos de análisis más precisos, como, por ejemplo, análisis de Infrarrojo (NIRS)

Principio

(Van Soest, P., et. al. 2020) Este sistema fue diseñado para ser aplicado a alimentos para animales, particularmente pastos y forrajes. En el método LAD se parte de FAD que se trata con H_2SO_4 12 M (72%), durante 3 horas a 20°C para hidrolizar y solubilizar los carbohidratos. La hidrólisis se realiza en crisoles fritos con adiciones repetidas de ácido que permiten que el ácido hidrolice la muestra durante la reacción. El residuo se filtra, se lava y se seca a 100°C, pesado, incinerado y vuelto a pesar a la pérdida neta por incineración se denomina LAD.

Equipo

1. Balanza analítica
2. Equipo de filtración, constituido por:
 - Un matraz kitasatos
 - Una trompa de vacío
3. Estufa con control de temperatura a 105c.
4. Desecador con sílica gel como desecante
5. Mufla con control de temperatura a 550c.-600c.

Materiales

1. Probetas de 100ml.
2. Reloj de laboratorio
3. Bandeja de vidrio o de plástico, alrededor de 20x30 cm. que da cabida a unos 24 crisoles, y adaptado entre 10 a 15 grados de dependiente.
4. Sistema de obtención de agua destilada-caliente constantemente.

Reactivo

1. H_2SO_4 al 72% (12 M.)

Procedimiento

1. Para la determinación de la Lignina Detergente Acido se usa el residuo de la determinación de la fibra detergente, ácido en los mismos crisoles de filtración o de gooch.
2. Colocar los crisoles de gooch que contienen los residuos de la determinación de la Fibra Detergente Acida en la bandeja de plástico, dando a esta una inclinación suficiente para que el ácido puede drenar. La parte superior de la bandeja puede estar unos dos centímetros sobre el plano.
3. Añadir el ácido sulfúrico al 72% a los crisoles que se encuentran en la bandeja de plástica y que contienen los residuos hasta que estén casi llenos (proceso de digestión).
4. Con una varilla de vidrio mezclar el contenido hasta formar una pasta homogénea.
5. Continuar la digestión durante 3 horas añadiendo ácido dos veces más con intervalos de una hora.
6. Al final de 3 horas de digestión colocar los crisoles de gooch con el residuo digerido por el ácido sulfúrico al 72% en el equipo de filtración.
7. Eliminar primero el exceso de ácido mediante succión.
8. Lavar los crisoles de gooch que contiene el residuo digerido con abundante agua caliente (alrededor de 90c.) hasta obtener un filtrado libre de ácido.
9. Comprobar el pH del filtrado con papel indicador.
10. El peso de la muestra es el mismo de la muestra original usada para la determinación de la fibra Detergente Acido (peso A).
11. Colocar los crisoles de gooch con el residuo digerido y lavado, en la estufa durante una noche a 105 °C.
12. Ubicar los crisoles de gooch en el desecador por 30 minutos para su enfriamiento.
13. Pesar los crisoles de gooch (peso B).
14. Poner los crisoles de gooch que contiene el residuo digerido y seco en la mufla a 550c. y durante 4 horas como mínimo.
15. Sacar los crisoles de gooch de la mufla, y colocarlos en el desecador por media hora para su enfriamiento.
16. Pesar los crisoles de gooch con los residuos incinerados (peso C).

Cálculos

$$\%LAD\ PS = \frac{PesoB - PesoC}{PesoA} \times 100$$

Donde:

% *LAD PS* = Lignina Acido Detergente en base Parcialmente Seca

Peso A = peso de la muestra

Peso B = peso de los crisoles de gooch

Peso C = Peso de los crisoles más los residuos incinerados

$$\%LAD\ BS = \frac{\% FAD\ PS * 100}{\% de Materia seca Parcial}$$

Donde:

% *LAD BS* = % Lignina Acido Detergente en Base Seca

% *LAD PS* = % Lignina Acido Detergente en Base Parcialmente Seca (PS)

% *de Materia Seca Parcial* = 105° C = 100 - % Agua

3.11.5 LIGNINA ACIDA DETERGENTE (L.A.D.) MÉTODO ANKOM

Equipos

1. Balanza analítica
2. Estufa con control de temperatura a 105° C.
3. Desecador con sílica gel como desecante
4. Mufla con control de temperatura a 550.-600° C.

Materiales

1. Filters bags Ankom F57 (fundas para fibra)
2. Bandejas de vidrio de 2 l (2000 ml)
3. Beaker de 1 l (1000 ml)
4. Probeta de 2000 ml
5. Vaso de precipitación
6. Toallas absorbentes

- **Reactivo**

1. H₂SO₄ al 72% (12 M)

- **Procedimiento**

1. De la determinación de la fibra detergente ácida, tomamos las fundas con la muestra digerida para seguir el proceso para obtener lignina ácida detergente.
2. Estas fundas las colocamos en la bandeja de vidrio completamente seca (si hay humedad presente en las fundas el ácido sulfúrico reaccionara con el agua, lo cual afectara los resultados), en donde añadimos el ácido sulfúrico al 72 %, aproximadamente 500 ml.
3. Colocar el beaker de 1 l dentro de la bandeja de vidrio de 2 l para mantener sumergidas las fundas. Agitamos las fundas cada 30 minutos, aplastando y alzando el beaker de 1 l, aproximadamente 30 veces.
4. Después de 3 horas vaciar el H₂SO₄ y enjuague con agua caliente (90 a 100 °C) para remover todo el ácido. Repetir los enjuagues hasta obtener un pH neutro. Enjuagar con aproximadamente 250 ml de acetona por 3 minutos, para remover el agua. Nota: no introducir las fundas en la estufa hasta que la acetona este completamente evaporada.
5. Secar completamente en la estufa a 105 °C por 4 horas. Sacar las fundas de la estufa y colocar directamente dentro del equipo de secado, pesar la bolsa y aplánala para remover el aire. Enfríe a temperatura ambiente y pese.
6. Calcinar toda la funda en un crisol previamente pesado en la mufla a 550 °C por 3 horas, deje enfriar y calcule el peso perdido. Calcular la corrección de la funda blanca calcinada, usando la pérdida de peso en la ignición de una funda blanco secuencialmente corrida a través de los pasos de FDA y lignina.

Cálculos

$$\%LAD\ PS = \frac{(W3 - (W1 \times C1))}{W2} \times 100$$

Donde:

% *LAD PS* = Lignina Acido Detergente en base Parcialmente Seca

W1= peso de la funda tarada

W2= peso de la muestra

W3= peso después del proceso de extracción

C1= Blanco corrección de la funda (peso final secado en la estufa/peso original de la funda blanco)

$$\%LAD\ BS = \frac{\%FAD\ PS * 100}{\%de\ Materia\ seca\ Parcial}$$

Donde:

% *LAD BS* = % Lignina Acido Detergente en Base Seca

%*LAD PS* = % Lignina Acido Detergente en Base Parcialmente Seca (PS)

% *de Materia Seca Parcial* = 105° C = 100 - % Agua

3.11.6 DETERMINACIÓN DE CENIZAS INSOLUBLES EN ACIDO (A.I.A.)

Principio

Este método se realiza para determinar el contenido en materias minerales insolubles. Se basa en la destrucción de la materia orgánica presente en la muestra de los piensos y sus materias primas, a través de la extracción de las cenizas totales con una solución de ácido clorhídrico, filtración a través de papel filtro libre de cenizas, incineración y pesaje del residuo (FEDNA, 2000)

Equipos

1. Balanza analítica
2. Plancha precalcinadora
3. Mufla

Materiales

1. Probeta
2. Bandeja de arena
3. Crisoles de porcelana
4. Embudos
5. Erlenmeyer

6. Papel filtro sin cenizas
7. Varilla de agitación
8. Pisceta

Reactivos

1. HCl 3N

Procedimiento

1. Pesamos los crisoles previamente tarados, añadimos aproximadamente 4 o 12 g de muestra para heces y alimento respectivamente con precisión de 0,1mg.
2. Colocamos los crisoles en una plancha precalcinadora hasta carbonizar, llevamos a la mufla a 550 °C por 12 horas
3. Secamos las muestras de la mufla y procedemos a agregar 25 ml de HCl 3N a cada muestra.
4. Colocamos en una plancha precalcinadora provista de arena hasta su total evaporación.
5. Las muestras lavamos con agua destilada previamente calentada a ebullición, y procedemos a su filtración, utilizando el papel filtro sin cenizas y evitando la perdida de la muestra.
6. Una vez filtradas las muestras las colocamos en el mismo crisol con el papel filtro sin ceniza, y las secamos en la plancha precalcinadora.
7. Posteriormente son llevadas a la mufla para su incineración a 550 °C por 4 horas.
8. Transcurrido este tiempo las muestras son colocadas en el desecador por una hora y luego procedemos a pesar.

Cálculos

$$\%AIA\ PS = \frac{WCc - WC}{WMS} \times 100$$

Donde:

$\%AIA\ PS$ = % de Cenizas Insolubles en Acido (Siglas en ingles) *en base Parcialmente Seco*

WCc= peso crisol más ceniza

WC= peso crisol

WMS= peso muestra seca

$$\%AIA\ BS = \frac{\%AIA\ PS * 100}{\%de\ Materia\ seca\ Parcial}$$

Donde:

$\%AIA\ BS = \% \text{ Cenizas Insolubles en Acido en Base Seca}$

$\%LAD\ PS = \% \text{ Cenizas Insolubles en Acido en Base Parcialmente Seca (PS)}$

$\%de\ Materia\ Seca\ Parcial = 105^{\circ}\text{C} = 100 - \% \text{ Agua}$

3.12 PROCEDIMIENTOS ESTANDARIZADOS (FAO)

3.12.1 DETERMINACIÓN DE FIBRA NEUTRO DETERGENTE (FND) - MÉTODO DE FILTRACIÓN

Principio

(Robertson, J., & Van Soest, P., 1981) La muestra después del desengrase se hierva con el reactivo detergente neutro (NDF) seguido de tratamiento con α -amilasa en una solución reguladora para disolver el almidón restante. La pérdida en el peso resultante de la incineración del residuo seco corresponde al peso de NDF.

Alcance del método

1. El método descrito es aplicable para la determinación de piensos con un contenido NDF superior del 1%
2. Las muestras deben analizarse por duplicado. La diferencia entre los valores de dos las determinaciones paralelas realizadas en la misma muestra no excederán: 0.3% en términos absolutos para contenidos inferiores al 10% y 3% en relación con un valor superior para contenidos iguales a o superior al 10%.
3. Se puede usar una incubación adicional con proteasa para eliminar restos de las proteínas no solubles en el residuo.
4. Debido al tratamiento con α -amilasa en una solución reguladora para disolver el resto de almidón, la fracción de fibra también se denomina "aNDF". Se puede omitir el uso de α -amilasa si las muestras (por ejemplo, paja y heno) no son ricas en almidón.
5. Si se encuentran problemas de filtración, se puede usar una capa de arena marina como ayuda para la filtración

Equipos

1. Balanza analítica, precisa a 0.1 mg.
2. Cisoles de filtro de vidrio, P100 o equivalente.
3. Aparatos de calefacción.
4. Equipo de filtración, conectado a un sistema de vacío, por ejemplo, un sistema Fibertec.
5. Desecador.
6. Horno de secado ventilado, capaz de mantenerse a una temperatura de $103 \pm 2^{\circ} \text{C}$.
7. Horno de mufla, capaz de mantenerse a una temperatura de $550 \pm 20^{\circ} \text{C}$.

Reactivos

1. Acetona calidad técnica.
2. Solución Neutro detergente (SND), el cual contiene en 1 litro de agua destilada: 30 g Sulfato de Lauril Sódico (= do decil Na sulfato), 6.81 g Sodio tetra borato $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7 \cdot 10 \text{H}_2\text{O}$, 4.56 g di-Sodio hidrogeno fosfato Na_2HPO_4 o 5.72 g $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$, 18.61 g Etileno di amino tetra acético acido, sal de di sodio, 10 ml 2-ethoxy-ethanol. Ajustar el pH de la solución a 6.9–7.1 usando hidróxido de sodio o ácido hidro clorhídrico.
3. Solución de Amilasa. Disolver 2.5 mg amilasa estable al calor en 60.6 ml of 0.1 M di sodio hidrogeno fosfato (Na_2HPO_4) y 39.2 ml de 0.1 M potasio dihidrógeno fosfato (KH_2PO_4)

Procedimiento

Pretratamiento

1. Pesar cada crisol P100 o su equivalente.
2. Pesar 0.5 g de la muestra con una aproximación a 0.1 mg (W1) en un crisol.
3. Colocar los cisoles en el equipo de filtración y agregue aproximadamente 30 ml de acetona a cada crisol y filtro usando vacío.
4. Repetir el lavado dos veces.
5. Secar el residuo al aire y transfíralo cuantitativamente a un vaso de precipitación.

Digestión

1. Añadir a cada crisol 50 ml de solución neutro detergente (SND) y hervir durante 60 ± 1 minuto bajo reflujo, Si se produce espuma, agregue unas gotas de agente antiespumante.
2. Filtrar la mezcla a través de un crisol usando vacío.
3. Lavar el residuo dos veces, cada vez con 10 ml de agua destilada caliente.
4. Agregar un volumen de acetona para cubrir el residuo. Retirar la acetona después de unos minutos aplicando una ligera succión.
5. Transferir el residuo cuantitativamente a un vaso de precipitación.
6. Añadir a cada vaso de precipitación 1–2 ml de solución de α -amilasa y luego 30 ml de agua destilada hirviendo. Dejar reposar de 5 a 10 minutos.
7. Transferir la mezcla a un crisol y lavar dos veces con agua destilada caliente y dos veces con acetona hasta que el lavado sea total. Secar el residuo por succión después de cada lavado.

Secado e incineración

1. Colocar los crisoles en un horno ajustado a $103 \pm 2^\circ\text{C}$ y séquelos por mínimo 4 horas, el tiempo de secado comienza cuando el horno ha alcanzado los 103°C .
2. Colocar los crisoles en un desecador y dejar enfriar.
3. Pesar el crisol directamente después de sacarlo del desecador al dispositivo lo más cercano a 0,1 mg (W2).
4. Colocar los crisoles en el horno de mufla e incinere durante 2 horas a $550 \pm 20^\circ\text{C}$. El tiempo de incineración comienza cuando el horno ha alcanzado 550°C .
5. Colocar los crisoles después de la incineración en un desecador y dejar que se enfríen.
6. Pesar el crisol directamente después de sacarlo del desecador al dispositivo lo más cercano a 0,1 mg (W3).

Cálculo

$$\%FND PS = \frac{(W2 - W3) * 100}{W1}$$

Donde:

$\% FND$ = % Fibra Neutro Detergente en base parcialmente seca

W1 = peso de la muestra (g).

W2 = peso de crisol y residuo después del secado (g).

W3 = crisol de peso y residuo después de la incineración (g).

3.12.2 DETERMINACIÓN DE FIBRA DETERGENTE ÁCIDA (ADF) Y LIGNINA (ADL) - MÉTODO DE FILTRACIÓN

Principio

(AOAC 973.18. 2010) La muestra después del desengrase se hierva con una solución de detergente ácido. La pérdida de peso resultante de la incineración del residuo seco corresponde al peso del FAD. Para la determinación de LAD, ebullición adicional con ácido sulfúrico concentrado debe realizarse antes de medir la pérdida de peso resultante de la incineración del residuo seco.

Alcance del método

1. El método descrito es aplicable para la determinación de piensos con un contenido FAD o LAD superior del 1%
2. La diferencia entre los valores de dos determinaciones paralelas realizadas en la misma muestra no debe exceder: 0.3% en términos absolutos para contenidos inferiores al 10%. 3% en relación con el valor más alto para contenidos iguales o superiores al 10%.
3. Se puede usar una incubación adicional con amilasa para eliminar restos de almidón no soluble en el residuo.
4. Tenga cuidado de no dañar el filtro de vidrio en el crisol cuando use la varilla de vidrio.
5. Si se encuentran problemas de filtración, se puede usar una capa de arena marina como ayuda para la filtración

Equipos y materiales

1. Balanza analítica, precisa a 0.1 mg.
2. Crisoles de filtro de vidrio, P100 o equivalente.
3. Aparatos de calefacción.

4. Equipo de filtración, conectado a un sistema de vacío, por ejemplo, un sistema Fibertec.
5. Desecador.
6. Horno de secado ventilado capaz de mantenerse a una temperatura de 103 ± 2 ° C.
7. Horno de mufla capaz de mantenerse a una temperatura de 550 ± 20 ° C.

Reactivos

1. Acetona de calidad técnica.
2. Solución detergente ácida (ADS), que contiene 20 g de Cetil Trimetil Amonio Bromuro en 1 litro de ácido sulfúrico 0,5 M.
3. 72% de ácido sulfúrico (p / p).

Procedimiento

Pretratamiento

1. Pesar el crisol vacío con una aproximación a 0.1 mg.
2. Pesar 1 g de la muestra con una aproximación a 0.1 mg (W1) en el crisol.
3. Colocar los crisoles en el equipo de filtración y agregue aproximadamente 30 ml de acetona a cada crisol y filtro usando vacío.
4. Repetir el lavado dos veces.
5. Secar el residuo al aire y transfíralo cuantitativamente a un vaso de precipitación.

Digestión (paso Solución Ácida Detergente (SAD))

1. Agregue a cada vaso 50 ml SAD y hierva durante 60 ± 1 minutos mientras está bajo reflujo, si se produce espuma, agregue unas gotas de agente antiespumante.
2. Filtrar la mezcla a través de un crisol usando vacío.
3. Lavar el residuo dos veces, cada vez con 10 ml de agua destilada caliente.
4. Agregar una pequeña cantidad de acetona para cubrir el residuo. Eliminar la acetona después de unos minutos aplicando una ligera succión.

Primer secado

1. Colocar los crisoles en un horno (estufa) ajustado a 103 ± 2 ° C y seque durante al menos 4 horas. El tiempo de secado comienza cuando el horno ha alcanzado los 103°C.

2. Colocar los crisoles en un desecador y deje enfriar.
3. Pesar el crisol directamente después de sacarlo del desecador con una aproximación a 0,1 mg (W2).

Digestión (paso LAD)

1. Agregar 10 ml de ácido sulfúrico al 72% a cada crisol y revolver cuidadosamente con una varilla de vidrio para romper todos los grumos.
2. Llenar los crisoles hasta la mitad con el ácido y revolver cada 30 minutos.
3. Después de 3 horas, filtrar la mayor cantidad de ácido posible al vacío y lavar el contenido con agua destilada caliente hasta que esté se libre de ácido.

Segundo secado

1. Colocar los crisoles en un horno ajustado a 103 ± 2 ° C y seque durante al menos 4 horas. El tiempo de secado comienza cuando el horno ha alcanzado los 103 ° C.
2. Colocar los crisoles en un desecador y dejar enfriar.
3. Pesar el crisol directamente después de retirarlo del desecador lo más cercano a 0,1 mg (W3).

Incineración

1. Colocar los crisoles en el horno de mufla e incinere las muestras por 2 horas a 550 °C ± 20 °C. El tiempo de incineración comienza cuando el horno alcanzó 550° C.
2. Colocar los crisoles en un desecador y dejar enfriar.
3. Pesar el crisol directamente después de sacarlo del desecador con una aproximación a 0,1 mg (W4).

Cálculo

$$\begin{aligned} \%FDA\ PS &= \frac{(W2 - W4) * 100}{W1} \\ \%LAD\ PS &= \frac{(W3 - W4) * 100}{W1} \end{aligned}$$

Donde:

$\% FDA\ PS$ = % de Fibra Acido Detergente en base Parcialmente seca

$\% LAD\ PS$ = % de Lignina Acido Detergente en base Parcialmente seca

W1 = peso de la muestra (g).

W2 = peso del crisol y el residuo después del primer secado (g).

W3 = peso del crisol y el residuo después del segundo secado (g).

W4 = peso del crisol y el residuo después de la incineración (g).

Se presenta algunas de las tablas de composición de diferentes alimentos, concentrados para la elaboración de balanceados, henos de pastos de clima templado y clima tropical por el esquema de paredes celulares o denominado también el esquema Van Soest que fueron analizados en el transcurso de los años y financiados por diferentes proyectos de investigación entre los más importantes: “Proyecto R.V.V. entre los años 1999 a 2002. Proyecto con FUNDACYT año 2006. Proyecto SENESCYT año 2009 a 2013

3.13 TABLAS DE COMPOSICIÓN DE ALIMENTOS, CONCENTRADOS PARA LA ELABORACIÓN DE BALANCEADOS, HENOS DE PASTOS DE CLIMA TEMPLADO Y CLIMA TROPICAL POR EL ESQUEMA VAN SOEST

Tabla 16. Composición de la pared celular de algunos concentrados

CONCENTRADOS	CODIGO	FND	FAD	LAD	Hemicelulosa	Celulosa
Aceite de palma (Esmeraldas)	Rp 256	-	-	-	-	-
Afrecho de trigo Fino (Riobamba)	Rco 89	39,8	12,42	2,69	27,38	9,73
Banano Fresco (Prov. Guayas)	Rco 255	5,38	4,52	1,79	0,86	2,73
Hna. Pescado Exportación (Manta)	Rco 43	7,44	5,69	0,21	1,75	5,48
Hna. Pescado Pampa (Portoviejo)	Rco 44	52,46	52,35	9,45	0,11	42,9
Maíz importado (AFABA)	Rco 40	9,24	4,64	0,75	4,60	3,89
Maíz Nacional (Quevedo)	Rco 41	10,18	4,03	0,68	6,15	3,35
Melaza (Guayas)	Rp 257	-	-	-	-	-
Palmiste Torta (AFABA)	Rp 235	64,72	53,28	15,87	11,44	37,41
Pepa de algodón (PROVAB)	Rco 258	43,59	33,64	9,05	9,95	24,59
Polvillo grueso arroz (Quevedo)	Rco 87	28,46	23,27	4,81	5,19	18,46
Polvillo Medio arroz (Guayas)	Rco 88	21,66	15,39	4,96	6,27	10,43
Poroto de soya (canadiense)	Rco 38	8,07	6,45	3,03	1,62	3,42
Semita de trigo 1 (AFABA)	Rco 315	33,98	11,59	2,75	22,39	8,84
Semita de trigo 2 (Riobamba)	Rco 543	34,68	10,68	2,21	24	8,47
Torta de algodón (AFABA)	Rco 234	19,18	15,64	5,68	3,54	9,96
Torta soya importada 1 (Bolivia)	Rco 65	11,62	10,28	2,94	1,34	7,34
Torta de soya nacional (Quevedo)	Rco 39	13,24	13,95	1,66	-0,71	12,29

(Guevara, P.2024)

Tabla 17. Composición de la pared celular de pastos de clima templado

PASTOS CLIMA FRIO		FND	FAD	LAD	Hemicelulosa	Celulosa
Pastos	Código					
Alfalfa 40 días Heno (Tungurahua)	Rp 171	37,04	33,02	6,90	4,02	26,12
Alfalfa 50 días Heno (Calpi)	Rp 19	45,59	41,75	8,50	3,84	33,25
Alfalfa 50 días Heno (Tungurahua)	Rp 172	37,46	33,31	5,58	4,15	27,73
Alfalfa 60 días Heno (Punín)	Rp 173	48,19	42,33	8,95	5,86	33,38
Alfalfa mezcla varios tipos Heno (Punín)	Rp 336	51,77	45,47	9,30	6,30	36,17
Avena Forrajera Heno 105 días (San Luis)	Rp 311	53,28	34,59	3,49	18,69	31,10
Calcha (Hojas de maíz) (Chambo)	Rp 358	62,22	41,71	6,24	20,51	35,47
Estipa Heno 70 días (Chambo)	Rp 193	63,21	38,52	4,88	24,69	33,64
Kikuyo Heno 75 días (Chambo)	Rp 192	65,14	37,94	6,03	27,20	31,91
Pasto Azul Heno 50 días) (Chambo)	Rp 443	49,22	34,36	4,11	14,86	30,25
Morera Heno) (Chambo)	Rp 385	36,93	37,39	6,34	-0,46	31,05
Rye Grass Heno 45 días (Latacunga)	Rp 158	53,89	36,47	3,29	17,42	33,18
Rye Grass Heno 60 días (Latacunga)	Rp 159	52,63	37,07	3,19	15,56	33,88
Rye Grass Heno 75 días (Latacunga)	Rp 60	50,77	35,30	2,99	15,47	32,31
Rye Grass Heno 75 días (Latacunga)	Rp 335	51,01	35,38	3,41	15,63	31,97
Trébol Heno 65 días (Latacunga)	Rp 194	33,19	27,48	4,93	5,71	22,55
Vicia Heno 105 días (Latacunga)	Rp 313	39,56	33,75	7,17	5,81	26,58

(Guevara, P., 2024)

Tabla 18. Composición de la pared celular de pastos de clima cálido

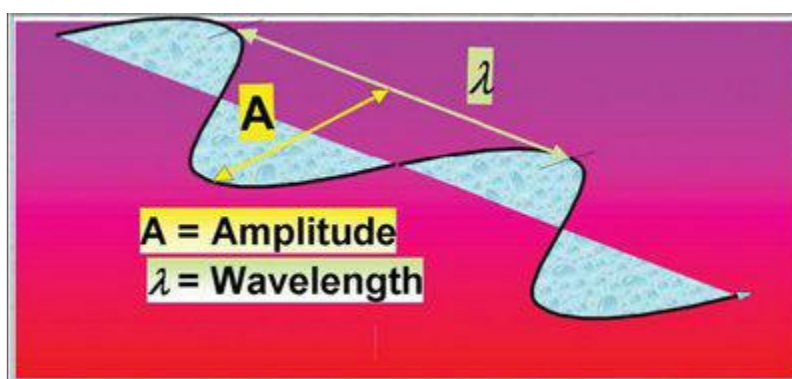
PASTOS CLIMA CALIDO						
Pastos	Código	FND	FAD	LAD	Hemicelulosa	Celulosa
Brachiaria 40 días Heno	Rp 464	76,03	49,20	7,20	26,83	42,00
Caraca Heno (Bucay)	Rp 413	52,10	44,33	9,02	7,77	35,31
Elefante 90 días Heno (Quevedo)	Rp 414	68,63	51,39	5,59	17,24	45,80
Gramalote 180 días Heno (Quevedo)	Rp 415	67,35	47,34	3,96	20,01	43,38
King Grass 50 días Heno (Tena)	Rp 217	68,60	48,51	4,45	20,09	44,06
King Grass 60 días Heno (Tena)	Rp 356	73,01	53,09	7,25	19,92	45,84
Kudzú 45 días Heno (Bucay)	Rp 384	52,06	44,67	9,45	7,39	35,22
Kudzú 55 días Heno (Bucay)	Rp 463	50,58	43,83	8,21	6,75	35,62
Kudzú 65 días Heno (Bucay)	Rp 514	57,07	47,49	10,42	9,58	37,07
Maní forrajero 30 días Heno (Bucay)	Rp 442	40,77	38,31	7,29	2,46	31,02
Maní forrajero 50 días Heno (Bucay)	Rp 441	50,36	43,15	8,62	7,21	34,53
Maralfalfa 120 días Heno (Puyo)	Rp 334	56,93	56,43	7,91	0,50	48,52
Maralfalfa 120 días Heno (Quevedo)	Rp 462	67,86	48,83	9,48	19,03	39,35
Saboya 65 días Heno (Quevedo)	Rp 357	75,60	59,95	7,80	15,65	52,15
Saboya 70 días Heno (Quevedo)	Rp 161	67,42	55,17	9,37	12,25	45,80
Yuca Ratón 60 días Heno (Quevedo)	Rp 383	38,57	34,58	7,44	3,99	27,14
Yuca ratón 70 días Heno (Quevedo)	Rp 485	36,16	33,14	6,65	3,02	26,49
Yuca ratón 80 días Heno (Quevedo)	Rp 528	41,24	24,35	7,91	16,89	16,44

(Guevara, P., 2024)

3.14 ANALISIS DE LOS ALIMENTOS POR ESPECTROSCOPIA DE REFLECTANCIA DE INFRAROJO CERCANO (NIRS)

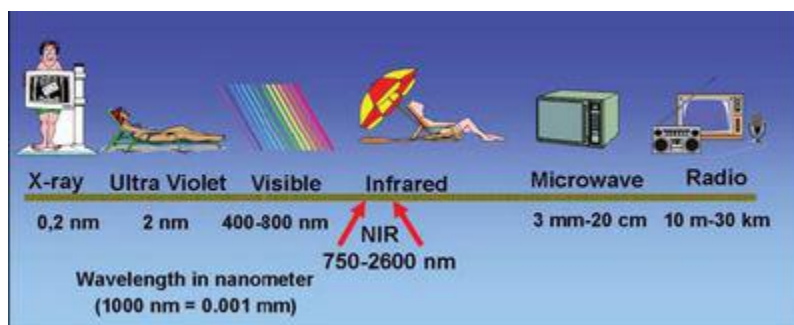
(Groenewald, T., & Köster, H., 2006). La palabra “espectroscopia” deriva de la raíz latina spectrum (apariencia, imagen) y la palabra griega skopia (ver). Esta definición es más bien descriptiva de la medición espectroscópica en sí misma. En esencia, la tecnología NIRS involucra la luz interactuando con un material, donde una radiación electromagnética ocurre en forma de ondas. La longitud de onda es la distancia entre los dos picos o puntos altos, y se indica con el símbolo λ (lambda). (Figura 1). La longitud de onda en el espectro NIR se mide normalmente en nanómetros (nm) donde $1 \text{ nm} = 10^9 \text{ m}$ o $1000 \text{ nm} = .001 \text{ mm}$. Esa parte del espectro visible al ojo humano se extiende de alrededor de 400 nm á 800 nm, mientras que el espectro infrarrojo se extiende de aproximadamente 2,500 nm á 25,000 nm. El infrarrojo cercano es considerado esa parte del espectro situada entre la región visible y la región infrarroja. El rango de longitudes de onda que el NIRS cubre está entre 750nm á 2,600nm (Figura 2).

Figura 138. Onda típica que se propaga por el espacio.



(Groenewald, T., & Köster, H., 2006)

Figura 139. Espectro electromagnético



(Groenewald, T., & Köster, H., 2006)

(Rivera, A., & Alba, J., 2017) El análisis de la composición nutricional de los alimentos usados en las dietas de animales es importante en la toma de decisiones en el sistema productivo; sin embargo (Cozzolino, D., 2002), indica que el control analítico de los alimentos y productos es un punto crítico en lo que se refiere a la aplicación práctica de los conocimientos científicos generados en el campo de la nutrición animal. Los métodos tradicionales de análisis, cuantitativos y cualitativos, son laboriosos, demandan tiempo, mano de obra y son de elevado costo. (De Boever, J., et. al. 1995) El desarrollo de la tecnología de espectroscopía de reflectancia de infrarrojo cercano (NIRS) durante las últimas dos décadas ha abierto nuevas perspectivas para una solución barata, rápida y una evaluación cuantitativa y cualitativa precisa de diversos materiales orgánicos, aparte de su rapidez, esta técnica física no es destructiva, no necesita reactivos químicos y no produce contaminantes. (Aguilar, L., 2014), el método (NIRS) propone ser una herramienta de análisis valiosa, ya que demuestra que contribuirá a futuro con el control de materias primas o insumos de consumo y producción nacional.

Los motivos que hacen esta técnica atractiva son diversos: permite el registro de sólidos, líquidos y gases; no requiere pretratamiento de muestra; permite el análisis multicomponente, etc. Además (Vásquez, D., et al., 2004), las ventajas de esta técnica incluyen el proveer información sobre el valor de un alimento en segundos, que requiere un mínimo tratamiento de la muestra, minimiza el daño ambiental, de alta precisión que permite predecir varios factores simultáneamente. (Valenciaga, D., & Simoes, E., 2006). La espectroscopia NIRS ha alcanzado un gran desarrollo a nivel mundial por su precisión y exactitud. Se trata de una técnica que tiene, además potencialidades para ser automatizada. Su práctica permite analizar, de forma rápida y relativamente fácil, un gran número de muestras. (Yukihiro, O., et. al. 2007). Por esto, se hace necesario desarrollar técnicas rápidas y confiables que permitan evaluar los alimentos, así como controlar la calidad de los productos agropecuarios y (Ferrari, M., et al. 2004) otros productos de muy diversa procedencia

3.14.1 FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA

(Alomar, D., & Fuchslocher, R., 1997). La interacción de la materia con la energía obedece a la ley de Beer-Lambert, que establece que la absorbancia a cualquier longitud de onda es igual es proporcional al número o concentración de moléculas o absorbentes presentes en el camino recorrido por la radiación. (Castillo, M., 2007), la complejidad de la señal NIR hace imprescindible la utilización de técnicas químio métricas que nos

permitan interpretar, entender y modelar grandes conjuntos de datos. **(Saliba, E., et al., 2003)**. Cuando se utiliza la tecnología NIRS los pasos a seguir son: Selección de muestras, adquisición de datos, lectura espectral, tratamiento matemático, demostración de ecuaciones, validación y finalmente rutina analítica. **(Broгна, N., et al. 2009)**. La espectroscopia por infrarrojo cercano (NIRS) es una metodología que se basa en la quimiometría, que relaciona la luz absorbida en una muestra con la composición química de la misma y con base en ello se desarrollan ecuaciones de predicción ha sido aplicada en el análisis de productos de alimentos entre otros. **(Valenciaga, D., & Simoes, E., 2006)**. La palabra espectroscopia se deriva de la combinación latina de spectrum ‘imagen’ y del griego skopia ‘ver’. Específicamente, la espectroscopia de reflectancia en el infrarrojo cercano (NIRS) es la medición de la longitud de onda e intensidad de la absorción de luz infrarroja cercana, que realizan determinados componentes químicos de la muestra. **(Osborne, B., & Fearn, T. 1986)**. La luz infrarroja cercana se extiende en un rango de 700 nm – 2500 nm y tiene energía suficiente para excitar sobre tonos y combinaciones de vibraciones moleculares a altos niveles de energía **(Vázquez D., et al, 2004)** con cambios de energía en la región correspondiente al rango infrarrojo cercano con longitudes de onda entre 800 y 2500 nm. Estas técnicas combinan la espectroscopia, la estadística y la computación y genera modelos matemáticos que relacionan la composición química (presencia de grupos químicos activos). **(Osborne, B., & Fearn, T. 1986)**, se usa típicamente para medir de forma cuantitativa grupos funcionales orgánicos, especialmente O-H, N-H y C=O. **(Givens, D., & Deaville, E., 1999)**. Espectroscopia de Reflectancia en el Infrarrojo Cercano (NIRS) El método se basa en que, cuando la luz (energía) incide sobre una muestra, una parte de los fotones se transmite a través de esta, siendo el resto absorbida. La absorción de energía por la muestra produce que los enlaces entre Carbono e Hidrógeno (C-H), Oxígeno e Hidrógeno (O-H) y Nitrógeno e Hidrógeno (N-H); principales constituyentes de la estructura básica las sustancias orgánicas vibren en distintas formas. **(Shenk, J y Westerhaus, O., 1995)**. En su aplicación al análisis de forrajes y otros compuestos, la técnica se basa en que el espectro lumínico cercano al infrarrojo puede proporcionar información acerca de los principales elementos estructurales asociados a los organismos vivos, ya que los grupos funcionales que responden a la radiación en este espectro son C-H, O-H, N-H, S-H y C=O.

3.14.2 ANTECEDENTES HISTÓRICOS

(Prieto, N., 2006) La teoría de la espectroscopia de infrarrojo (IR) se conoce desde hace 200 años (Herschel, 1800), sin embargo, no fue hasta un siglo después, en 1930, cuando W. W. Coblentz construyó el primer espectrofotómetro de infrarrojos. Posteriormente, la Segunda Guerra Mundial contribuyó a la expansión de la tecnología IR como herramienta analítica. (Ozaki, Y., et. al., 2021) En la siguiente década, los clásicos espectrofotometristas trabajaron con bandas de absorción fundamental muchas de las cuáles se encontraban dentro del espectro de infrarrojo medio (2500 a 50000 nm), y encontraron que las bandas de absorción combinadas que ocurrían en el infrarrojo cercano (NIRS) eran de poca importancia, pero al pasar el tiempo con la disponibilidad de mejores suministros y la aparición de ordenadores revivieron el interés por la espectroscopia de infrarrojo cercano (NIRS). (Shenk, J., et. al. 1979) Así, en 1968, Ben-Gera y Norris desarrollaron un espectrofotómetro NIRS computarizado para el análisis de la carne y a mediados de los años 70, diseñaron y construyeron sus propios sistemas NIRS computarizados para los análisis de forrajes.

En la actualidad, la espectroscopia de reflectancia en el infrarrojo cercano ha demostrado ser una técnica analítica de una gran versatilidad, rapidez, eficacia, y con un bajo coste de mantenimiento (Prevolnik et al., 2004), lo cual, ha contribuido a que durante la última década se haya extendido, considerablemente, el empleo de esta técnica en campos de índole tan diversa como la industria alimentaria. En este sentido cabe decir que en los últimos diez años se han consolidado dentro de la industria agroalimentaria algunos servicios analíticos basados en la tecnología NIRS, y se han creado otros muchos, tanto a nivel público como privado (Garrido, A., et al., 2003), ya que la tecnología NIRS o espectroscopia en el infrarrojo cercano es una técnica de análisis muy implantada en las industrias agroalimentarias como herramienta de apoyo para el control de calidad de materias primas y productos, debido fundamentalmente, a su rapidez en el análisis, puedan ser analizados rutinariamente

3.14.3 CALIBRACIÓN NIRS

(Garrido, A., et al., 1997). Para, predecir la composición química de una muestra, se requiere previamente hacer calibraciones, para lo cual se necesita contar con un conjunto amplio de muestras representativas, coleccionar los espectros, analizar las muestras mediante un método de referencia y validar dichas ecuaciones con otras muestras que no formen parte del conjunto de muestras para calibración. (Cozzolino, D., et al., 2003), al

desarrollar una calibración NIRS, se relaciona mediante un algoritmo de la composición fisicoquímica (método de referencia de los datos de química húmeda) con la información espectral (óptica), y se debe definir el tratamiento matemático de los datos, el segmento del espectro a incluir y el método de regresión a emplear; este último se hace a través de la aplicación de modelos estadísticos. (Saliba, E., et al, 2003), se selecciona la ecuación más confiable, que tenga un elevado coeficiente de determinación (R^2) y un bajo error estándar de calibración (SEC). Se tiene en cuenta también el error estándar de predicción (SEP), que debe ser algo mayor al del SEC. Como criterio general, se puede afirmar que una ecuación es considerada como aceptable cuando la magnitud del SEP es menor a un tercio de la desviación estándar de los datos de referencia. (Vásquez, D., et al., 2004), una vez calibrado el espectrofotómetro, el uso del NIRS redunda en bajos costos de análisis para los usuarios que los requieran, por lo cual, a nivel internacional, es una tecnología que tiene amplia acogida.

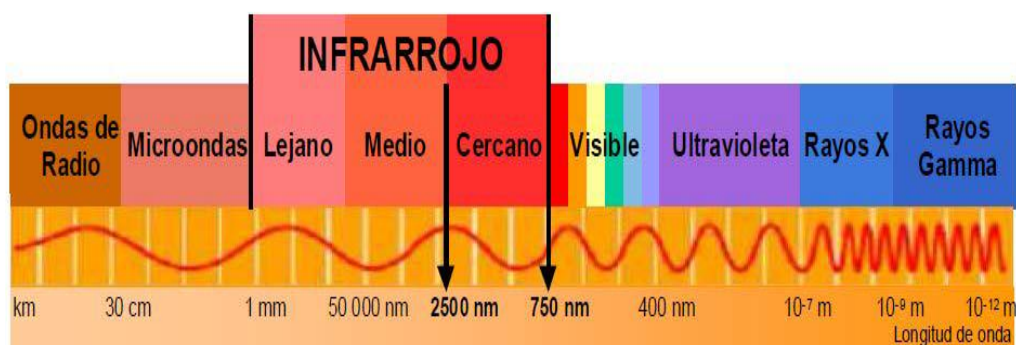


Figura 140. Espectro electromagnético. Fuente: (Prieto, N., 2006)

3.14.4 ASPECTOS FUNDAMENTALES

(Prieto, N., 2006) La espectroscopia en el infrarrojo cercano es una técnica que forma parte del campo de estudio de la espectroscopia molecular, la cual estudia la interacción de la radiación electromagnética con la materia. En cuanto a la radiación infrarroja se refiere, pueden diferenciarse tres zonas distintas: el infrarrojo cercano, que abarca radiaciones con longitudes de onda comprendidas entre los 750 nm y los 2500 nm; el infrarrojo medio, desde los 2500 a los 50 000 nm; y el infrarrojo lejano, entre los 50 000 nm y 1 mm. (Osborne, B & Fearn, T., 1986) El fundamento de la espectroscopia en el infrarrojo cercano consiste esencialmente en la emisión de un haz de luz monocromática sobre la muestra, la cual, en función de su composición y de la naturaleza de los enlaces presentes en sus moléculas, realizará una absorción selectiva de energía y reflejará otra determinada cantidad, la cual es cuantificada por unos detectores presentes en el

instrumento NIR y será utilizada para cuantificar indirectamente la cantidad de energía infrarroja absorbida

Descripción de la técnica

(Jiménez, P., 2007), La técnica se basa en la quimiométrica, la cual combina la espectroscopia, la estadística y la computación para desarrollar modelos matemáticos así como una muestra es irradiada con un haz de luz del infrarrojo cercano y la cantidad de luz absorbida es registrada para relacionarla con la presencia de grupos funcionales de las moléculas presentes en dicha muestra. (Givens, D et al., 1997) el NIRS registra la absorción de energía en enlaces de C-H, N- H y O-H que se encuentran presentes en componentes orgánicos; de esta manera, cuando la luz entra en contacto con la materia, induce la absorción de energía únicamente en los enlaces que vibren con una frecuencia similar a la energía incidente. (Reeves, J., 2000), la absorción puede ser débil o fuerte conforme a la naturaleza de los enlaces químicos de los compuestos sólidos o líquidos; de esta manera cada grupo funcional absorbe luz de la región NIRS a una frecuencia y longitud de onda específica representado en el espectro como picos de absorción. (Rivera, A., & Alba, J., 2017) En Alimentos destinados a La nutrición animal el NIRS puede ser aplicado para desarrollar modelos de predicción en gramíneas y leguminosas, con variaciones en la predicción dependiendo del componente químico y de la especie forrajera. Esta metodología ha sido aplicada en varios países de Europa y en América, siendo en América Latina Brasil el país que está a la vanguardia de dicha tecnología. Por las anteriores razones, en forrajes y/o alimentos destinados a nutrición animal, ha sido reconocida como una técnica de bajo costo, con resultados confiables, y que sirve de herramienta para el balanceo de raciones o la formulación de un suplemento

3.14.5 APLICACIONES DEL NIRS EN EL ANÁLISIS DE ALIMENTOS

(Valenciaga, D., & Simoes, E., 2006) Desde la década del setenta, se ha utilizado la espectroscopia de reflectancia en el infrarrojo cercano (NIRS), como una técnica alternativa a métodos químicos y químico-biológicos tradicionales, con muy buen potencial para obtener estimaciones seguras y muy rápidas en lo que se refiere a la composición química y nutricional de los forrajes (Restaino, E., et. al., 2009). Entre los indicadores tradicionalmente analizados se deben destacar: materia seca, digestibilidad in vitro de la materia seca, la proteína bruta, fibra (FB, FND, FAD, lignina, celulosa, hemicelulosa), extracto etéreo, cenizas, minerales y energía (EB, EM). Al comparar

diversas técnicas de laboratorio de uso común para predecir la digestibilidad de más de 150 ensilajes evaluados in vivo, en Gran Bretaña, **(Barber et al. 1990)** concluyeron que NIRS es actualmente la mejor en términos de precisión y exactitud, siempre que se cuente con calibraciones apropiadas. Además, el costo del análisis por muestra es menor que los realizados hasta ahora por las técnicas analíticas clásicas. El costo es el del equipo y sus repuestos (ambos caros), pero normalmente la inversión se recupera en menos de un año, debido a la economía de la materia prima, energía y tiempo. Los costos fijos se reducen y la calidad de la producción se incrementa. Su única desventaja es que la calibración requiere tiempo, cuidado y personal con conocimientos básicos de estadística y computación **(Ferrari, M., et al. 2004)**

(Valenciaga, D., & Simoes, E., 2006) Los trabajos de investigación comienzan a extenderse a otras aplicaciones interesantes en el terreno de la alimentación animal: mejora genética, clínica animal y control de la calidad de los productos, entre los que podemos destacar:

1. -Degradabilidad in sacco.
2. -Cinética de degradación en el rumen.
3. -Proteína dañada por calor en forrajes.
4. -Determinación de pH, ácido láctico, ácido acético, amonio y azúcar en ensilajes.
5. -Determinación de azúcares solubles en forraje verde.
6. -Determinación de glucosinolatos, fenoles, ácido erúico, inhibidor de tripsina, fitatos y glucanos en granos y forrajes.
7. -Determinación de aminoácidos en granos y harinas.
8. -Conteo de células somáticas.
9. -Determinación de óxido crómico en dietas de animales.
10. -Determinación de la composición química y físico-química de la leche y derivados lácteos.
11. -Determinación de la proporción de ingredientes simples en mezclas.
12. -Determinación de la composición botánica de los pastos

(Landau, S., et., al., 2005). La metodología ha sido aplicada en el análisis de forrajes con resultados confiables para la predicción materia seca, proteína, carbohidratos estructurales, solubles, grasa y en leguminosas para la identificación de factores antinutricionales como taninos y fenoles.

CAPITULO 4

4 DIGESTIBILIDAD

4.1 INTRODUCCIÓN

(Jaurena, J., et. al., 2023) Para garantizar la calidad de los alimentos destinados a animales de producción, resulta esencial contar con metodologías precisas y confiables que permitan cuantificar de manera objetiva sus atributos y características relevantes. (Madsen, J., et. al., 1997) Rara vez es posible en los países menos desarrollados, cumplir con las metodologías y los objetivos propuestos ya que requiere mucha información sobre la composición y digestibilidad de los alimentos ofrecidos a los animales y sobre la respuesta de los animales a los nutrientes consumidos. (Apraez, E., 2020) Los análisis de laboratorio (análisis proximal y paredes celulares), si bien contribuyen a dar una información clara del contenido nutricional de un determinado alimento, nada indican de todos aquellos procesos que sufren en el tracto digestivo de los animales, sin poder visualizarse si no se estudia el grado de aprovechamiento de un alimento en su paso por el tracto gastrointestinal y que reflejan el valor nutritivo del pienso. (Juarez, A., et., al., 2009) La información actual sobre el valor nutritivo de los alimentos para consumo animal se basa en su contenido de proteína, fibra, grasa y ceniza, la cual se obtiene mediante el análisis tradicional de Weende, su digestibilidad y su contenido de componentes estructurales. Por su lado (Colombatto, D., 2003) da a conocer que los tres parámetros que constituyen la performance animal son: el consumo, la digestibilidad y la eficiencia de utilización de los alimentos. (Gaggioti, M., 2008) En términos de calidad, se establece que, para optimizar la producción de los alimentos, es necesario optimizar la digestibilidad y el consumo. El valor nutritivo de los alimentos está determinado por: La concentración de nutrientes, la digestibilidad de esos nutrientes y la naturaleza de los productos finales de la digestión. (Chumpawadee, S., et. al., 2007); (Martinez, S., 2005) Hay muchos métodos utilizados en la evaluación de alimentos, como el análisis químico, medición de degradabilidad, medición de digestibilidad y predicción del consumo de alimento. De acuerdo con (Ibrahim, M., et. al., 1995), es difícil construir una relación significativa entre los componentes químicos del alimento y digestibilidad. Conforme lo indica (Cozzolino, D., 2002), la evaluación de alimentos integra un conjunto de parámetros o componentes que se consideran importantes en la definición de la calidad, siendo los más importantes el contenido energético (evaluado a través de la

digestibilidad y contenido de fibra) y el contenido de proteína. Para **(Juan, N., et. al., 1995)** Desde el punto de vista práctico son: proteína bruta (PB), digestibilidad de la materia seca (DMS), y consumo animal voluntario de materia seca (CMS). **(Dieter, H., 1998)** . Para la determinación del valor nutritivo de un alimento, solo la parte de los nutrientes que es digestible es relevante. Por lo tanto, uno de los análisis biológicos más importantes es el de la digestibilidad. **(Bondi, A., 1988)** Generalmente, en los experimentos de alimentación, el valor de un alimento o una ración determinada se compara con el de otro de eficiencia conocida. El valor del alimento en estudio se expresa por su digestibilidad, metabolizabilidad, etc.

4.2 Historia

(Apraez, E., 2020) Desde las primeras pruebas de digestibilidad se llevaron a cabo en la Estación Experimental en Weende la Universidad de Göttingen en Alemania, muchas técnicas se han desarrollado para estimar la digestibilidad **(Givens, D., et al., 2000)** y comenzó antes de 1860. Desde entonces, se han realizado un gran número de ensayos de digestibilidad en todo el mundo y reportados en una variedad de revistas científicas. Un detallado

Una descripción detallada de los procedimientos involucrados en la medición de la digestibilidad in vivo fue dada por **(Schneider, B., & Flatt, W., 1975)**, mientras que **(Minson, D., 1981)** describió las consideraciones especiales involucradas en la medición de la digestibilidad del forraje. La medida de la digestibilidad de la paja fue descrita por **(Cottyn, B., et al. 1989)** y **(McDonald, P., et al. 1995)** proporcionaron una visión general del tema. **(Madsen, J., et. al., 1997)** Históricamente, el valor nutritivo de un alimento se ha basado en digestibilidades aparentes. de proteína cruda, Grasa bruta, fibra bruta y nitrógeno. extracto libre (NFE) medido en experimentos con animales

Importancia de los ensayos de digestibilidad

(Carmona, E., et. al., 2012) Debido a la importancia de la digestibilidad en la nutrición, se desarrollaron diversos métodos para evaluar un ingrediente en particular o una dieta balanceada en todos los nutrientes que la constituyen, el nivel de aprovechamiento y su efecto en el desempeño y en la salud del animal. **(García, D., et. al., 2009)** No todo el alimento que consume un animal es asimilado por su organismo, ya que parte de él es eliminado por otros mecanismos, principalmente por heces, representando ésta la mayor pérdida nutricional en el proceso de utilización energética. Por lo tanto, no es suficientes los análisis químicos, debiéndose considerar los procesos de digestión, absorción y

metabolismo animal. **(Bochi, O., et. Al. 1999)** El conocimiento de la digestibilidad de los alimentos es básico para establecer su valor nutritivo y, por tanto, para la formulación de raciones para los animales. **(Martínez, S., 2005)** La digestibilidad usualmente se refiere este término para representar la cantidad de materia seca y/o nutrientes que son absorbidos en el tracto gastrointestinal por el animal. **(Forejtová, J., et., al., 2005)** La digestibilidad es un factor importante del sistema nutritivo de los alimentos. La digestibilidad determina la relación entre el contenido de nutrientes y la energía disponible para los animales. **(Posada, S., et. al., 2012)** Si bien la energía bruta puede ser medida de forma simple a través del empleo de una bomba calorimétrica, su validez en nutrición animal es cuestionable por la variabilidad que registran los alimentos en digestibilidad y metabolismo. Entendiendo que las pérdidas fecales son las más representativas de la energía consumida, ensayos de digestibilidad que permitan cuantificar su magnitud estarán dando una mejor aproximación de la energía realmente disponible para el animal. Factores dependientes del alimento y del animal afectan la digestibilidad del alimento y, por tanto, su valor energético. **(Harmon, D., 2007).** La digestibilidad sirve como una medida para determinar la calidad de la dieta y de las materias primas utilizadas en ella, la disponibilidad de los nutrientes que las constituyen, la importancia que tienen estos en la salud de los animales, su desempeño, además sirve como soporte para el cálculo de los requerimientos nutricionales. **(Jaurena, J., et. al., 2023)** la digestibilidad es una de las variables con mayor impacto sobre el valor nutricional de los alimentos; se utiliza para estimar la concentración y las pérdidas energética. **(Reyes, N & Mendieta, B., 2000); (Stein, H., et al., 2007)** La digestibilidad es la base de las metodologías de evaluación de los alimentos, por definición es la fracción de alimento consumido que no aparece en las heces y por lo tanto se absorbe en el tracto gastrointestinal o absorbida por el animal. **(Dieter, H., 1998)** o se precisa como la diferencia proporcional entre la cantidad de nutrientes ingeridos con el alimento y aquellos excretados en las heces. **(Juan, N., et. al., 1995)** La digestibilidad de la materia seca estima la proporción del alimento consumido que es retenida en el cuerpo del animal, y que provee los nutrientes necesarios para las funciones de mantenimiento, crecimiento y producción.

4.3 Relación de la digestibilidad y energía útil de los alimentos

(Madsen, J., et. al., 1997) Sin tener en consideración el sistema para determinar la digestibilidad de los componentes orgánicos del alimento este el primer paso para la

estimación del valor energético y el factor más importante para la determinación del mismo en los piensos. El valor energético de un alimento se expresa como energía digerible, energía metabolizable o energía neta dependiendo del sistema de evaluación utilizado. **(Posada, S., et. al., 2012)** El total de nutrientes digestibles (TND), como unidad de expresión del contenido energético de los alimentos, constituye una medida aproximada de la digestibilidad y **(Weiss, W., 1993)**, cuando su valor es conocido otras expresiones de energía pueden ser calculadas mediante el uso de ecuaciones apropiadas. **(Martinez, A., et. al., 2010)** El mayor exponente de los sistemas basados en la digestibilidad de los nutrientes ha sido el de nutrientes digestibles totales (TDN) que fue usado durante décadas en Estados Unidos, aunque no sin críticas a sus errores y limitaciones. **(Tobal, C., 2012)** La digestibilidad, o el contenido de energía digestible o metabolizable, se determina generalmente mediante ensayos de balance nutritivo, utilizando animales vivos. El método in vivo es sin duda, el que da la mejor estimación de la digestibilidad de un alimento. **(Apraez, E., 2020)** Una de las propiedades mas importantes de los alimentos es su energía acumulada, que puede ser aprovechada por el organismo animal, la cual se determina a partir de:

- 1) Pruebas de digestibilidad
- 2) Calorimetría (bomba calorimétrica): restando a la EB consumida la EB de las heces se obtiene la energía digestible aparente.
- 3) Estimaciones a partir de composición química del alimento ingerido y material excretado a partir de ecuaciones de predicción
- 4) A partir de la determinación de Nutrientes Digestibles Totales (NDT), en donde:
 - $NDT \% = \%PCD + \%FCD + \%ELND + 2.25 \times \%EED$
 - $1 \text{ kg NDT} = 4.4 \text{ Mcal ED}$
 - $ED (\text{Mcal/kg}) = \% \text{ NDT} \times 0.04$

(Van Es, A., 1977) Propuso ecuaciones a partir de los coeficientes de digestibilidad de los nutrientes, para estimar la energía metabolizable (E.M.) en kcal/kg de la materia seca contenida en las raciones y alimentos cerca del nivel de mantenimiento para bovinos, partiendo de pruebas con ovinos

Ecuación para Bovinos

$$E.M. = (3.8*PCD) + (9.0*EED) + (3.3*FCD) + (3.5*ELND) + (- 15*azúcares)$$

Donde:

E.M. = Energía Metabolizable en kcal/kg MS

PCD	= Proteína cruda digestible en kg de la MS
EED	= Extracto etéreo digestible en kg de la MS
FCD	= Fibra cruda digestible en kg de la MS
ELND	= Extracto libre Nitrógeno digestible en kg de la MS

Ecuación para Ovinos

$$E.M. = (4.1*PCD) + (9.0*EED) + (3.3*FCD) + (3.5*ELND) + (- 15*azúcares)$$

Donde:

E.M.	= Energía Metabolizable en kcal/kg MS
PCD	= Proteína cruda digestible en kg de la MS
EED	= Extracto etéreo digestible en kg de la MS
FCD	= Fibra cruda digestible en kg de la MS
ELND	= Extracto libre Nitrógeno digestible en kg de la MS

En vista del menor contenido energético de di y monosacáridos (azúcares) en comparación con el extracto libre de N (ELND), se resta 0,15 veces el contenido de "azúcar" siempre que el alimento contenga más del 8% de "azúcares".

(Dieter, H., 1998) La digestibilidad de la materia orgánica de un forraje es proporcional al aporte de energía digestible (ED), es decir, entre más digestible es un forraje, más energía aporta. (Weisbjergt, M., & Hvelplund, T., 2005) Los nuevos sistemas de evaluación de piensos para determinar la energía de los mismos son basados en la modelización del metabolismo en el tracto digestivo, su objetivo principal es predecir la digestibilidad en la situación de producción real. Por el contrario, los sistemas clásicos son basados en la digestibilidad estándar, y la mayoría de los sistemas se basan en la digestibilidad obtenida utilizando ovinos alimentados a nivel de mantenimiento. (Jara, M., 2018) afirma que el valor energético de los alimentos depende en gran medida de la digestibilidad, ya que determina primariamente la utilización del alimento por parte del organismo y que a partir de la energía digestible se deriva otro concepto, el de digestibilidad de la energía (DE), que se trata de la relación entre la energía digestible y la energía bruta, expresada porcentualmente.

4.4 DIGESTIBILIDAD APARENTE VERSUS REAL

(Lachmann, M., & Araujo, O., 2001) La digestibilidad, estima la proporción de nutrientes en una ración que depende en gran parte de la composición nutritiva de la ración en estudio, aunque su medición se complica porque las heces tienen cantidades de

materiales que no provienen de la dieta (compuestos nitrogenados, lipídicos, minerales y glúcidos no fibrosos de origen endógeno). Por esta razón los coeficientes de digestibilidad son “aparentes”, sin embargo, son de gran utilidad. **(Bondi, A., 1988)** Como consecuencia, la diferencia entre la ración consumida y las heces excretadas se define como alimento aparentemente digerido, en tanto que la digestibilidad real o verdadera, es la diferencia entre lo consumido y los restos en las heces, descontando los productos metabólicos. Los compuestos nitrogenados, lípidos y minerales de origen metabólico se mezclan con las heces, pero no existe secreción de carbohidratos en el intestino. **(Church, D., et. al., 2002)** Una fracción del nitrógeno, las grasas, los carbohidratos y los elementos inorgánicos que aparece en las heces proviene de fuentes endógenas. Con gran excepción de los carbohidratos fibrosos, las principales clases de nutrientes (proteínas, lípidos y carbohidratos) se excretan en las heces a partir de fuentes endógenas. Esta fracción endógena es indistinguible de la porción sin digerir de los nutrientes ingeridos. A los componentes fecales derivados directamente del alimento ingerido se le conoce como **substancias exógenas** (no proveniente de tejidos corporales); al derivado de los tejidos del cuerpo se le denomina **substancias metabólicas fecales (endógenas)**. **(Pirela M., 2005)** La digestibilidad aparente de un alimento, expresa la proporción en que se encuentran los nutrientes digestibles y su utilización con respecto al total del alimento ingerido por el animal. **(Tobal, C., 2012)** El método de digestibilidad In vivo, denominado también de digestibilidad aparente por colección total de heces fecales es el que mide más exactamente la digestibilidad de un alimento, aunque presenta un leve sesgo respecto de la digestibilidad real debido al material endógeno que se elimina a través de las heces. **(Carmona, E., et., al., 2012)** Normalmente los valores que se obtienen en las pruebas de digestibilidad son valores aparentes, es decir, incluyen en las heces los aportes metabólicos y endógenos provenientes de enzimas, células epiteliales, células microbiales, metabolitos, residuos de bilis, jugos digestivos, células muertas, moco de las membranas que tapizan el tubo digestivo, materia mineral, bacterias vivas y muertas, que llegan a la luz intestinal y que no fueron ofrecidos en el alimento. Por consiguiente **(Apraez, E., 2020)**, es necesario antes de hacer una diferenciación de los métodos para hallar la digestibilidad, aclarar los conceptos de digestibilidad real y aparente. La digestibilidad real es aquella en la que algunas sustancias que son excretadas con las heces contienen productos de desecho del organismo. La digestibilidad real nos da un índice más exacto de la cantidad de alimento digerido por el animal, pero los sistemas para valorarla son más dispendiosos. Se considera como digestibilidad aparente

la fracción del alimento que desaparece en el tracto gastrointestinal y que aparentemente es digerida o absorbida porque no aparece en las heces. Se precisa como digestibilidad aparente ya que, además de residuos de alimentos no digeridos, las heces contienen enzimas y otras sustancias secretadas en el intestino, que no son reabsorbidos, partes de la mucosa intestinal que se desprenden a medida que el alimento pasa a través del intestino, también son excretados en las heces, independientemente del tipo de alimento. Es por lo que **(Reyes, N., & Mendieta, B., 2000)**, mencionan que los valores obtenidos en los ensayos de digestibilidad se les conoce con el nombre de coeficientes de digestibilidad aparente porque solo toma en cuenta la proporción de alimento excretado en las heces. Por otro lado, aparte de los materiales citados anteriormente y que se producen en el organismo animal y aparecen en la heces, en el proceso de digestión especialmente de los rumiantes se produce metano que se forma por la fermentación de los carbohidratos y no se absorbe, pero tampoco aparece en las heces porque es eliminado por la eructación, pérdida que al no ser tomada en cuenta conduce a un valor falso. Por lo -anteriormente expuesto a estos valores obtenidos se les llama digestibilidad aparente para distinguirla de la real o verdadera. Esta última es más difícil de determinar en la práctica, ya que se debe determinar la fracción de las heces y la orina que corresponde al alimento y la que corresponde al animal. El coeficiente de digestibilidad real es el que se calcula tomando en cuenta todos los aspectos señalados anteriormente. Da a conocer una fórmula simple general, que considera el alimento ingerido, el mismo que es la diferencia entre el alimento ofrecido menos el alimento rechazado y la cantidad de heces producidas.

$$D = \frac{\text{Alimento ingerido} - \text{excretado}}{\text{Alimento ingerido}} \times 100$$

Donde:

D = Coeficiente de digestibilidad aparente

Alimento ingerido = Cantidad de alimento ingerido menos el rechazado

(Givens, D., et., al., 2000) Todos los valores deben de usarse en base seca, por la gran diferencia en el contenido de humedad del alimento en comparación de las heces producidas, considerando que **(McDonald. P., et. al., 1995)** los animales al consumir agua en cualquiera de sus forma (agua de bebida, agua presente en los alimentos, agua metabólica) funciona en el organismo como solvente en el que se transportan los nutrientes por todo el cuerpo y en el que se excreta los productos de desecho, se debe realizar determinar la digestibilidad de los nutrientes en base de la materia seca. **(Tobal,**

C., 2012) Por lo que la digestibilidad se expresa habitualmente como digestibilidad aparente o real" según las siguientes ecuaciones:

$$D.a.M.S. = \frac{C.M.S.I. - C.M.S.E.}{C.M.S.I.} \times 100$$

Donde:

D.a.M.S. = Digestibilidad aparente de la materia seca

C.M.S.I. = Cantidad de materia seca ingerida

C.M.S.E. = Cantidad de materia seca excretada

$$D.v.M.S. = \frac{C.M.S.I. - C.M.S.E. - E.E.}{C.M.S.I.} \times 100$$

Donde:

D.v.M.S. = Digestibilidad verdadera de la materia seca

C.M.S.I. = Cantidad de materia seca ingerida

C.M.S.E. = Cantidad de materia seca excretada

E.E. = Excreción endógena

(Apraez, E., 2020) Para determinar la digestibilidad de otros nutrientes, tanto la ingesta como las heces se someten a análisis químico en el laboratorio y se realiza la sustitución de ellos en la fracción materia seca. (Carmona, E., et., al., 2012) Se usa el contenido del nutriente que se pretende evaluar (proteína, fibra, extracto etéreo, ELN, etc.)

$$CDa = \frac{AC * NC - CH * NE}{AC * NC} \times 100$$

Donde:

CDa = Coeficiente de digestibilidad aparente

AC = Cantidad de alimento consumido en base seca

NC = Concentración del nutriente consumido (proteína, fibra, extracto etéreo, ELN, etc.)

CH = Cantidad de heces en base seca

NH = Concentración nutriente excretado (proteína, fibra, extracto etéreo, ELN, etc.)

Para el caso de la digestibilidad verdadera de los alimentos se puede calcular teniendo en cuenta los aportes endógenos con la siguiente fórmula:

$$CDv = \frac{AC * NC - ((CH * NE) - PE)}{AC * NC} \times 100$$

Donde:

CD_v = Coeficiente de digestibilidad verdadera

AC = Cantidad de alimento consumido en base seca

NC = Concentración del nutriente consumido (proteína, fibra, extracto etéreo, ELN, etc.)

CH = Cantidad de heces en base seca

NH = Concentración nutriente excretado (proteína, fibra, extracto etéreo, ELN, etc.)

PE = Pérdida endógena del nutriente.

(Bondi, A., 1988) Los coeficientes de digestibilidad aparente de la proteína y grasa, sin incluir la proteína y la grasa de origen metabólico, son siempre inferiores a los coeficientes de digestibilidad verdadera. Los coeficientes de digestibilidad aparente tienen la exactitud suficiente para la mayoría de las necesidades prácticas, y son los que aparecen en las tablas de valor nutritivo de los alimentos.

4.4.1 MÉTODOS PARA DETERMINAR EL COEFICIENTE DE DIGESTIBILIDAD APARENTE

(Carmona E., et. al., 2012) Debido a la importancia de la digestibilidad en la nutrición, se desarrollaron diversos métodos para evaluar un ingrediente en particular o una dieta balanceada en todos los nutrientes de los alimentos. (García, D., et. al., 2009); (Lachmann, M., & Febres, O., 2001) la determinación de los coeficiente de digestibilidad aparentes puede ser medidos in vivo o in vitro. En el primer caso se estima bajo cierto número de animales, mientras que, en el segundo, se simula el proceso natural de digestión en el laboratorio, habiendo complicaciones de tipo práctico en ambas. (Juan, N., et. al., 1995); (Apraez, E., 2020) Para establecer la digestibilidad aparente existen métodos directos e indirectos. (Reyes, N., & Mendieta, B., 2000) (Jaurena, J., et. al., 2023) Existen métodos que permiten caracterizar la biodisponibilidad y tasa de liberación, ya sea de fracciones individuales (i.e. PB, FDN), o de toda la materia seca (MS) o materia orgánica (MO). Los métodos para determinar la digestibilidad aparente se dividen en: Digestibilidad *In vivo*, *In vitro* e *In situ* (o *In sacco*). De la digestibilidad *In vivo*, existen dos formas para determinar la digestibilidad in vivo: Método Directo o convencional utilizando jaulas de digestibilidad. Método por indicadores. (Ribeiro, J., & Moreira, O., 2001) Los métodos biológicos fueron creados para representar y simular una parte o

una serie de partes del tracto digestivo y proceso de digestión en animales. Entre los métodos biológicos hemos considerado:

1. La digestibilidad con ensayos in vivo
2. La técnica in vitro de dos etapas (Tilley, J., & Terry, R., 1963)
3. La técnica in situ (Ørskov, E., et. al., 1980)
4. La in vitro cultivo semicontinuo (Czerkawski, J., & Breckenridge, G., 1977); y
5. La producción de gas in vitro (Menke, K-. & Steingass, H., 1988).

Para (Ramirez, S., 2010) La digestibilidad in vivo son pruebas en animales y existen dos métodos: el método directo y el indirecto. En el método directo se clasifican en dos tipos que son:

- a) Pruebas convencionales: Recolección de heces con la utilización de jaulas metabólicas y con la recolección en arneses.
- b) Técnicas de las proporciones: uso de indicadores.

Y el método Indirecto se clasifica en:

- a) Método de la diferencia para estimar la digestibilidad de un suplemento.
- b) Método de regresión.

La digestibilidad in vitro que son pruebas de laboratorio se clasifican en tres, en las que encontramos a:

- a) Tilley & Terry (1 y 2 fases)
- b) 2 fases Van Soest
- c) Utilización de enzimas.

La digestibilidad in situ que son estudios en el “lugar” de la digestión encontramos dos técnicas que son:

- a) Técnica in sacco.
- b) Técnica de la bolsa móvil.

(Czerkawski, J., & Breckenridge, G., 1977) Un nuevo aparato se ha desarrollado para simular lo que sucede en el rumen para mantener una población microbiana normal, bajo estrictas condiciones controladas para un largo período de tiempo. El aparato es sencillo de construir y operar. Es posible realizar cuatro experimentos replicados al mismo tiempo. El aparato es el rumen simulation technique (RUSITEC). El aparato ha sido utilizado dentro de alimentos o raciones con amplio rango de digestibilidad

4.4.2 MÉTODOS CON ENSAYOS IN VIVO PARA DETERMINAR LA DIGESTIBILIDAD POR RECOLECCIÓN DE HECES.

(Bondi, A., 1988) Generalmente, en los experimentos de alimentación, el valor de un alimento o una ración se expresa por su digestibilidad, metabolizabilidad, estos experimentos que se realizan con animales son más fiables y aplicables que otro tipo de análisis (Maynard, L., et. al., 1988) Una prueba de digestión requiere la recolección cuantitativa de las heces libres de contaminación urinaria. Los procedimientos modernos emplean diversos tipos de jaulas metabólicas. Una característica esencial de estas jaulas es que el animal debe tener libertad de movimiento, en particular para recostarse y levantarse. (Theodorou M., & France, J 2007) Las mediciones in vivo proporcionan la medida estándar de digestibilidad, ya que representan la respuesta real del animal a un alimento determinado. (Jaurena, J., et. al., 2023) además expresan la respuesta verdadera de los animales a los tratamientos alimenticios, y por ende constituyen los resultados de referencia los cuales se ajustan a los métodos de laboratorio.

(Carmona, E., et. al. 2012) Los ensayos de recolección total de heces, se caracterizan por el uso de animales y por la recolección total de las heces que estos producen. (Tobal, C., 2012) Existen diversos métodos para recoger las heces, dependiendo de la especie, del tipo de animal, y en las condiciones que se encuentra (estabulado o pastoreo). (Lachman, M., & Febres, O., 2001) involucra directamente factores del alimento y del animal que afectan el aprovechamiento nutricional. (Bondi, A., 1988) Se siguen diversas técnicas para la recogida de las heces sin contaminar con orina. Los animales se mantienen en jaulas diseñadas especialmente; en algunos modelos, el suelo consiste en una rejilla a través de la cual pasan las heces y la orina, quedando totalmente retenidas las heces en un contenedor colocado en forma adecuada (Apraez, E., 2020), o adaptarles con bolsas especiales o arneses. (Lachmann, M., & Araujo, O., 2001). El arnés o bolsa colectora se debe adaptar al animal hasta 2 o 3 días antes de comenzar la colección. El período de recolección generalmente dura 7 días.

(Weisbjergt, M., & Hvelplund, T., 2005) Muchos alimentos no pueden administrarse solos o darán lugar a una digestibilidad reducida si se administran solos, debido, a falta de estructura física o bajo contenido de proteína en el alimento de prueba, por contenido de factores antinutricionales o por mala palatabilidad. Se sabe que los alimentos bajos en proteínas resultan en una reducción del consumo de alimento y de la digestión de la fibra. Por esta razón el nivel de proteína bruta mínimo recomendado en los ensayos de digestibilidad es del 12% en materia seca. Por lo tanto, alimentos con bajo niveles de

proteína son suplementados con una fuente de proteína como la urea, la cual puede ser asumida como 100% digestible, o como una fuente de proteína donde la digestibilidad ha sido determinada de antemano (e.g., la torta de soya). Alimentos bajos en estructura, e.g. concentrado, balanceados que no pueden ser suministrados a los rumiantes como alimentos únicos necesitan ser suplementados con un forraje apropiado como los henos, mismos que deben ser determinados su digestibilidad de antemano. Entonces en cualquiera de estos casos la digestibilidad del alimento evaluado es calculada por diferencia. Al respecto **(Bondi, A., 1988)**, da a conocer que si lo que se desea es determinar la digestibilidad de los alimentos concentrados para los rumiantes, es necesario administrarlos con forraje como alimento base. En este caso, se determina en primer lugar la digestibilidad del forraje y a continuación, juntamente con el alimento en cuestión en una segunda prueba; seguidamente, se realizan los cálculos necesarios para obtener la digestibilidad del concentrado. Es conveniente destacar lo citado por **(Apraez, E., 2020)** quién indica que el Método de la Diferencia es útil cuando no haya interacción entre los alimentos en términos de su digestibilidad o lo que refiere **(Bondi, A., 1988)** que la digestibilidad por diferencia no es muy fiable si se producen efectos asociativos entre los alimentos.

(Weisbjerg, M., & Hvelplund, T., 2005) Para los piensos que sólo pueden suministrarse como una pequeña parte de la ración total debido a su mala palatabilidad, factores antinutricionales o incluso componentes tóxicos, el método por diferencia puede ser problemático, entonces se puede utilizar el método de regresión, donde la digestibilidad se determina en raciones con diferentes proporciones entre alimento de prueba y el suplemento, y luego la digestibilidad del alimento de prueba se determina mediante análisis de regresión y extrapolación. **(Apraez, E., 2020)** en el enfoque Método de Regresión se estima la digestibilidad de cada uno de los componentes de la dieta, mediante una regresión con la proporción del forraje en ella, y luego la digestibilidad del forraje se calcula mediante la extrapolación a cero inclusión del suplemento.

(García, D., et. al., 2009) El método tradicional en jaulas metabólicas o arneses es un proceso con ciertas dificultades especialmente en animales de pastoreo o de potrero, en que las heces son difíciles de manejar, bajo esta problemática la técnica que se utiliza es con indicadores (externos e internos). **(Maynard, L., et. al., 1988)** El problema de medir cuánto alimento obtiene un animal en pastoreo y determinar la digestibilidad de su alimento es tan importante como difícil. Aquí como en el caso del forraje seco, el método

de los indicadores han mostrado ser un sustituto útil del procedimiento común (jaulas metabólicas o arneses).

4.5 PRUEBAS DE DIGESTIBILIDAD EN RUMIANTES

(Van Es, A., & Van der Meer, J., 1978) Aunque la mayor parte del alimento para rumiantes es consumida por los bovinos, las mediciones de la digestibilidad se suelen realizar con ovinos. Entre las dos especies hay poca diferencia en cuanto a la digestibilidad, y, por supuesto, requiere mucho menos alimento, mano de obra y espacio para trabajar con ovinos. (Sankey, C., 2005) las diferencias en la digestibilidad de los nutrientes de los alimentos entre el ganado vacuno y el ovino son generalmente pequeños. La eficiencia con la que el ganado vacuno y ovino digieren diversos alimentos suele ser considerados esencialmente iguales. No hay diferencias de ninguna magnitud en las pérdidas porcentuales de energía alimentaria en heces, orina o metano si se hacían comparaciones a niveles nutricionales entre ovinos versus bovinos. (De Boever, J., et. al., 1984) Ya que los ensayos de digestibilidad con vacas son costosos y engorrosos, en su mayoría son reemplazado por pruebas con ovinos por ser más simple y más baratas, asumiendo que existe una capacidad de digestión igual para ganado bovinos y ovinos. (Brown, L., 2010) Dado que la diferencia en las pérdidas de energía fecal entre bovinos y ovinos alimentados de manera similar las raciones a niveles acordes con el tamaño corporal son insignificantes. (Cottyn, B., et. al., 1989) Ya que las pruebas con bovinos son caras (animales, alimento, equipos) y difíciles en su ejecución (separación de heces y orina), ellos son usualmente reemplazados con ovinos por ser pruebas más simple y baratas. (Bondi, A., 1988) Por razones económicas, se realizan más pruebas de digestibilidad con ganado ovino, y los coeficientes obtenidos con esta especie, se utilizan para calcular las raciones del ganado vacuno. (Weisbjergt, M., & Hvelplund, T., 2005). Por lo citado anteriormente los ovinos han sido escogidos como el animal preferido para obtener una digestibilidad estándar para los rumiantes.

4.5.1 EXPERIMENTO DE DIGESTIBILIDAD *IN VIVO* POR COLECCIÓN TOTAL DE HECES EN JAULAS METABÓLICAS.

Para la realización de las pruebas de digestibilidad *In vivo* se debe considerar algunos aspectos generales, como manifiesta (Bondi, A., 1988) que un experimento de digestibilidad supone la determinación de la ingestión de un alimento determinado, o de una ración, administrado a un animal y la recogida total de la excreción fecal de los

animales, correspondiente al alimento en estudio y que **(Nouel, G., 2003)** afirma que básicamente los registros exactos del consumo de alimentos, los rechazos y la producción fecal sean realizados; y una sub muestra de cada uno es almacenado para el análisis. **(Carmona, E., et. al. 2012)** En el método, primero, se establecen los requerimientos nutricionales del animal. Posteriormente, se procede a formular las dietas con las materias primas que se van a evaluar. **(Apraez, E., 2020)** Hay dos etapas en el ensayo de digestibilidad, el primero el período de adaptación y el segundo el período de recolección. El primero está diseñado para asegurar un proceso digestivo estable en el que los animales están comiendo aproximadamente la misma cantidad de alimento y que los excretas corresponden enteramente a la digestión de los piensos en experimentación.

Selección, número y edad de los animales para las pruebas de digestibilidad.

(García, D., et. al., 2009) El número de animales a seleccionar en el momento de realizar ensayos de digestibilidad, ya sea en condiciones de pastoreo o en confinamiento, debe ser una muestra representativa, ya que de esta manera las variaciones individuales se reducen. **(Bondi, A., 1988)** En los experimentos de digestibilidad deben emplearse varios animales, obteniendo la media de los resultados, para hacer mínima la variación individual. Las repeticiones proporcionan más posibilidades para detectar los errores en las determinaciones. **(Reyes, N & Mendieta, B., 2000)** La prueba se realiza con varios animales de acuerdo con un diseño experimental debido a que aun siendo los animales de igual edad, sexo, raza, se presentan diferencias individuales. **(Apraez, E., 2020)** Con respecto a la edad debe estar comprendida entre 18 y 24 meses para bovinos, entre 12 y 18 meses para ovinos. **(Cottyn, B., et. al., 1989)** con 6 ovinos castrados y como mínimo 4 animales por tratamiento, para pruebas con 1 solo alimento y para pruebas por diferencia con 2 alimentos se debe utilizar hasta 8 animales. **(Carmona, E., et. al., 2012)** La materia prima evaluada, debe ser ofrecida por lo menos a seis animales maduros. **(Church, D., et. al., 2002)** Comúnmente bastan de 4 a 6 animales por tratamiento para detectar diferencias entre dietas. **(Lachmann, M., & Araujo, O., 2001)** generalmente son suficientes de 4 a 6 animales por tratamiento para fines estadísticos.

4.5.2 MANEJO DE LOS ANIMALES PARA ENSAYO

(García, D., et. al., 2009) El paso por seguir luego de la selección es el período de acostumbamiento del animal, el cual tiene como fin limpiar el aparato digestivo de residuos alimenticios consumidos antes de comenzar el ensayo, de tal modo que el animal

se acostumbre a su nueva dieta y al manejo diario. **(Apraez, E., 2020)** Debe haber un periodo preliminar de adaptación en el cual se suministre el alimento o los nutrientes en estudio y los animales también deben ser introducidos a sus jaulas de digestibilidad. El período de adaptación apropiado a una dieta se estima entre 4 a 12 días, no extender el periodo experimental por más de 15 días, tiempo que es más que suficiente para la colección de heces. **(Reyes, N & Mendieta, B., 2000)** Los animales deben ser de preferencia machos porque facilita la recolección de heces y orina por separado. 7 días para adaptación a las jaulas. $\pm$ 15 días para adaptación a la ración, y colectación de heces y orina durante 5 a 7 días. Para **(Juan, N., et. al., 1995)** durante 10-15 días de ensayo y la medición del volumen de heces producido. **(Bondi, A., 1988); (Van Es, A., & Van Der Meer, J., 1980); (Cottyn, B., et. al., 1989)** El tiempo necesario para que los restos de los alimentos atraviesen el aparato digestivo es de 8-10 días. Por consiguiente, es necesario un periodo previo para que el aparato digestivo quede libre de restos de las comidas anteriores, y para adaptar el animal a la ración problema. Después de ese periodo previo, comienza la recogida y análisis de las heces. En el caso de los rumiantes, los periodos deben prolongarse hasta 8-10 días. **(Church, D., et. al., 2002)** es necesario un periodo preliminar de 3 a 10 días Luego del periodo preliminar de adaptación viene un periodo de recolección del sobrante del alimento y heces de 4 a 10 días. **(Carmona, E., et. al., 2012)** Los animales deben adaptarse a la dieta a evaluar en un período no inferior de cinco Después del periodo de adaptación se inicia el periodo de recolección total de heces, el cual tiene una duración variable dependiendo del diseño experimental empleado en el estudio, pero que por lo general es de tres a cinco días. **(Lachmann, M., & Araujo, O., 2001)** El manejo de animales para el ensayo en la fase de acostumbramiento tiene una duración mínima de dos semanas, especialmente en rumiantes, donde son necesarios entre ocho y diez días para eliminar los residuos de la dieta previa

4.5.3 NIVELES DE CONSUMO PARA LAS PRUEBAS

(Madsen, J., et. al., 1997); (Weisbjergt, M., & Hvelplund, T., 2005) Para las pruebas de digestibilidad in vivo en ovinos en la mayoría de los países han sido alimentados en nivel de mantenimiento. **(Carmona, E., et. al., 2012)** Los animales se alimentan por lo general dos veces al día, alimento debe ser ofrecido en una cantidad constante para mantener el peso corporal y las funciones basales de mantenimiento, u ofrecida ad libitum. **(Van Es, A., & Van Der Meer, J., 1980)** En promedio, para las pruebas de

digestibilidad de todos los alimentos y raciones, las ovinos estarán cerca del equilibrio energético, Esto sería alrededor de 40 g de materia seca por $\text{Kg}^{0.75}$ de peso corporal. Cuando el nivel de alimentación está cerca del nivel mantenimiento y el contenido de N de la dieta está por encima del 1,61% las diferencias entre digestibilidades obtenidos utilizando ovinos o bovinos son insignificantes. (Cottyn, B., et. al., 1989) con un nivel de alimentación de 23 g de DOM/ kg $\text{W}^{0.73}$ y un nivel de 11% de proteína cruda. (Osbourn, D., et., al., 1975) La cantidad de alimento necesario para satisfacer las necesidades energéticas de mantenimiento de los ovinos es de (23 g DOM/kg $\text{W}^{0.73}$ por 24 horas) calculados a partir de estimaciones hechas del peso vivo de la ovinos a ser usados en las pruebas y la concentración de la materia orgánica digerible (DOM) en la materia seca, así como el contenido de humedad de cada alimento utilizado.

4.6 PROCEDIMIENTO FCP ESPOCH PARA LA DETERMINACIÓN DE LA DIGESTIBILIDAD SIMPLE

En el área experimental de Nutrición Animal y Valoración de Alimentos de la Facultad de Ciencias Pecuarias (FCP.) de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo (ESPOCH) se lleva cabo pruebas de digestibilidad de alimentos para diferentes especies animales profundizando en rumiantes. Para realizar estas pruebas se utiliza los lineamientos determinados en el Instituto de Investigaciones de Flandes para la Agricultura, la Pesca y la Alimentación (I.L.V.O.) Melle Gontrode de la República de Bélgica.

Para la realización de los ensayos de digestibilidad en rumiantes se utiliza 6 ovinos machos de aproximadamente un año, mestizos, colocados en jaulas metabólicas de acero inoxidable. Procediéndose de la siguiente forma:

1. Período de adaptación de los alimentos a evaluarse suministrados ad libitum en piso por 7 días
2. Pesaje de los animales y registro del peso. (Cáceres, O., & González, E., 2015), el pesaje de los animales se realizará individualmente (un solo pesaje), aunque si se desea tener más precisión se tomarán pesajes al inicio y al final.
3. Pesados los animales colocarlos en las jaulas metabólicas para adaptación de las jaulas por un período de 10 días
4. Pesar el alimento para estudio de acuerdo con los niveles de mantenimiento considerando lo sugerido por (Osbourn, D., et., al., 1975); (Cottyn, B., et. al., 1989), de 23 y 26 g de Materia Orgánica Digerible de la Materia Seca (D.O.M.-D.M.) para la costa y sierra respectivamente

Nota: El consumo de alimento para la sierra se determinó luego de varias pruebas In vivo, considerando que los animales perdían peso al ser suministrados los 23 g de D.O.M - DM

5. Realizar un período de adaptación de los animales a la jaulas y alimentado suministrado a niveles de mantenimiento por un período de 8 días
6. Transcurridos los 8 días empezar a la toma y registro de datos por un período de 10 días
7. Suministrar del total del alimento dos veces por día y del sobrante de este y heces una vez sola vez, animal por animal y a la misma hora. Caso contrario existirá un desfase en el registro de la toma de datos para tabulación. (**McDonald, P., et. al., 1995**), en los experimentos de digestibilidad con rumiantes, resulta muy conveniente administrar las comidas siempre a la misma hora y que las cantidades consumidas no cambien de un día para el otro, porque si el suministro de alimento es irregular, la ingestión de alimentos quedaría subestimada y la digestibilidad sobreestimada
8. Colocar en el congelador los sobrantes del alimento de ser necesario y las muestras de heces animal por animal y día por día. Según lo recomendado por (**Carmona, E., et. al., 2012**) que la totalidad de las heces que se recolectan durante este periodo se deben acumular y mezclar únicamente con las heces de la misma unidad experimental, y diariamente se guardan a -15°C hasta el momento del secado, molido para los análisis de laboratorio
9. Cuando disponemos de tiempo sacamos las heces del congelador y dejamos descongelar las muestras en un sitio limpio por un período de 6 horas como mínimo.
10. Transcurridas las 6 horas procedemos a realizar la determinación de la Humedad “Inicial” o “Tal como Ofrecido” acorde a lo indicado en el capítulo anterior (3)
11. Dejando en los frascos previamente codificadas las muestras listas para el análisis proximal.

4.6.1 PRUEBAS DE DIGESTIBILIDAD



Fig. 141. Adquisición material de Investigación.

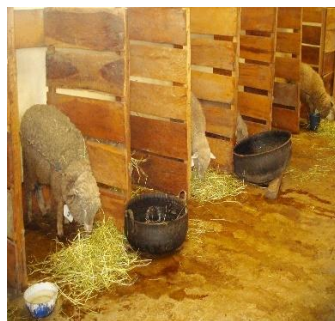


Fig. 142. Adaptación animales al alimento



Fig. 143. Oesaje de los animales



Fig. 144. Arreglo de las jaulas metabólica



Fig. 145. Ubicación y adaptación de los animales



Fig. 146. Pesaje del alimento para pruebas



Fig. 147. Suministro del alimento



Fig. 148. Recolección del sobrante alimento



Fig. 149. Pesaje del sobrante de muestra



Fig. 150. Recolección de las heces



Fig. 151. Pesaje diario de heces de cada animal



Fig. 152. Congelamiento de heces hasta análisis



Fig. 153. Descongelamiento heces análisis



Fig. 154. Equilibrio heces al medio ambiente



Fig. 155. Secamiento alimento y heces



Fig. 156. Molienda de alimento y heces



Fig. 157. Envase y codificación alimento y heces

Fuente: Laboratorio de Nutrición Animal y Bromatología

4.6.2 EJEMPLO DE PROCESAMIENTO DE LOS DATOS

Considerando el caso del animal No 1 de la tabla 17 Cuyo peso es de 21 kg al momento de ser pesado, por lo que el consumo según lo determinado por (Osbourn, D., et., al., 1975); (Cottyn, B., et. al., 1989), de 23g de DOM-DM/Kg de peso metabólico y realizando un consumo para nuestro medio de un aumento del 10%, lo que daría un consumo de 26 g/kg $W^{0.75}$ de DOM-DM. En este ejemplo los animales consumieron un heno de alfalfa de 56 días de corte

DATOS:

Parámetros para el animal:

Peso del animal 1 = 21.04 kg

Peso metabólico = $21.04^{0.75} = 9.82 \text{ kg } W^{0.75}$

Consumo = 26 g DOM-DM/kg $W^{0.75}$

Consumo en DOM-DM = $26 \text{ g} * 9.82 \text{ Kg } W^{0.75} = 255.42 \text{ g}$

DOM-DM = Digestibilidad de la materia orgánica en base seca establecidas por sus siglas en inglés

No se puede suministrar el alimento en base a la materia orgánica digestible de la materia seca sino como alimento o en tal como le ofrezco el alimento al animal, entonces considero los parámetros del alimento

Parámetros para el alimento:

% Materia seca = 88.00%

% Materia orgánica = 88.12%

% Digestibilidad de la M.S. = 65.00%

$$\text{Consumo Heno} = 255,42 * \frac{100}{88} + \frac{100}{88.12} + \frac{100}{65} = 506.74 \text{ g}$$

Tabla 19. Consumo real de alimento en tal como ofrecido para 6 ovinos de diferente peso

Cons.		Consumo.						
Met.	# Animal	W a	W ^{0,75}	MODMS	M. S.	M. O.	MOD	Cons real
	1	21	9,82	255,42	88%	88,12%	65%	507
	2	22,3	10,27	266,90				530
26	3	27	11,85	308,22				611
g/kg	4	19,5	9,28	241,27				479
W ^{0,75}	5	21,5	9,98	259,60				515
	6	23,9	10,79	280,60				557

Laboratorio de Nutrición animal y Bromatología FCP

Suministro a este animal 253,5 g. en la mañana y 253,5 g. en la tarde

Tabla 20. Registro de consumo de alimento (Ofrecido – Sobrante) y producción de heces durante los días de ensayo

Fecha	# Animal											
	A. 1		A. 2		A. 3		A. 4		A. 5		A. 6	
	W		W		W		W		W		W	
	Cons	Heces	Cons	Heces	Cons	Heces	Cons	Heces	Cons	Heces	Cons	Heces
	g	g	g	g	g	g	g	g	g	g	g	g
20/02/2019	504	333,5	529	295,5	605	485.0	473	285.0	513	333,5	557	373.0
21/02/2019	506	343,5	529	540.0	611	422,5	474	271,5	515	323.0	557	373.0
22/02/2019	506	382,5	528	374.0	606	464.0	462	276.0	513	380.0	525	335.0
23/02/2019	492	282.0	527	455.0	609	474.0	467	275,5	508	421.0	539	354,5
24/02/2019	506	312.0	528	336.0	606	477.0	472	276.0	509	319.0	551	444.0
25/02/2019	497	430.0	527	310,5	606	502,5	466	232,5	510	312.0	543	387.0
26/02/2019	504	358,5	528	364,5	602	440,5	467	285.0	512	368,5	543	421,5
27/02/2019	491	456.0	529	420,5	606	482,5	474	348.0	512	384,5	549	357.0
28/02/2019	500	347,5	528	421,5	611	502,5	473	303.0	514	328.0	548	325,5
01/03/2019	505	435.0	528	390,5	609	465,5	473	284.0	514	359.0	554	356.0
Promedio	501.2	368.1	527.9	390.8	607.3	471.6	470.1	283.7	511.8	352.9	546.4	372.6

Datos reportados por el Laboratorio de Nutrición animal y Bromatología FCP

Tabla 21. Registro de la determinación de la humedad en “Tal Como Ofrecido” del heno de alfalfa a suministrar a los animales y de las heces

Determinación de la humedad Tal como ofrecido		
Cog. Y #	% PromH ₂ O	% Prom.MS
Rp – 00019	0,00	100,00
Rhe – 00001	53,51	46,49
Rhe – 00002	53,23	46,77
Rhe – 00003	56,21	43,79
Rhe – 00004	43,88	56,12
Rhe – 00005	49,38	50,62
Rhe – 00006	51,01	48,99

Laboratorio de Nutrición animal y Bromatología FCP

Tabla 22. Registro de la determinación de la humedad Parcial o humedad higroscópica de la alfalfa a suministrase y de las heces de los animales

Determinación de la Humedad parcial o		
Cog. Y #	% PromH ₂ O	% Prom.MS
Rp - 00019	8,85	91,15
Rhe - 00001	6,97	93,03
Rhe - 00002	7,06	92,94
Rhe - 00003	7,23	92,77
Rhe - 00004	6,77	93,23
Rhe - 00005	7,18	92,82
Rhe - 00006	7,18	92,82

Laboratorio de Nutrición animal y Bromatología FCP

Una vez determinada estas 2 humedades procedemos a la determinación de la humedad total de la muestra empleando la siguiente fórmula

$$x = y + \frac{(100 - y) * C}{100}$$

Donde:

X = Humedad total

Y = Humedad en tal como ofrecido
 C = Humedad Higroscópica

Tabla 23. Registro de la determinación de la Humedad Total del heno de alfalfa y de la producción de heces de cada animal

Determinación de la Humedad Total				
	% H -TCO	% H - PS	% Hum.Tot.	% MS-Total
Rp – 00019	0.00	8,85	8,85	91,15
Rhe – 00001	53,50	6,97	56,75	43,25
Rhe – 00002	53,23	7,06	56,53	43,47
Rhe – 00003	56,21	7,23	59,37	40,63
Rhe – 00004	43,88	6,77	47,68	52,32
Rhe – 00005	49,38	7,18	53,01	46,99
Rhe – 00006	51,01	7,18	54,53	45,47

Laboratorio de Nutrición animal y Bromatología FCP

Una vez realizada la determinación de la “Humedad Total” tanto del alimento como de las heces se procede a obtener el “Coeficiente de Digestibilidad aparente” de la materia seca en % y la materia seca digestible (MSD) en g/kg de la siguiente manera:

% Humedad Total (alimento)= 8.85%

% Materia Seca (alimento) = 100 – 8.85% = 91.15%

% Humedad Total (heces)= 56.74%

% Materia Seca (heces) = 100 – 56.75% = 43.25%

Cantidad de Alimento Ingerido = 501 g

Cantidad de Heces = 368.0 g

$$\text{C. M. S. I. (g)} = \frac{\text{Cantidad Alimento. Ingerido} * 100.}{\% \text{ Materia seca Alimento}}$$

$$\text{C. M. S. E. (g)} = \frac{\text{Cantidad de Heces} * 100.}{\% \text{ Materia seca Heces}}$$

$$\text{C. M. S. I. (g)} = \frac{501 \text{ g (Tabla 18)} * 100.}{91.15\%} = 456.8 \text{ g}$$

$$\text{C. M. S. E. (g)} = \frac{368.0 \text{ g (Tabla ¿??)} * 100.}{43.25\%} = 159.2 \text{ g}$$

Donde:

C.M.S.I. = Cantidad de materia seca ingerida

C.M.S.E. = Cantidad de materia seca excretada

A continuación, aplicando la formula, procedemos a la determinación del Coeficiente de Digestibilidad Aparente de la Materia seca

$$\% D.a.M.S. = \frac{C.M.S.I. - C.M.S.E.}{C.M.S.I.} \times 100$$

Donde:

% D.a.M.S. = % Digestibilidad aparente de la Materia Seca

C.M.S.I. = Cantidad de materia seca ingerida

C.M.S.E. = Cantidad de materia seca excretada

Pudiéndose utilizar una fórmula más simplificada que sería:

$$\% D.a.M.S. = \frac{C.M.S.D}{C.M.S.I.} \times 100$$

Donde:

% D.a.M.S. = % Digestibilidad aparente de la Materia Seca

C.M.S.D. = Cantidad de Materia Seca Digerida

C.M.S.I. = Cantidad de Materia Seca Ingerida

$$\% D.a.M.S. = \frac{456.8 \text{ g} - 159.2 \text{ g}}{456.8 \text{ g}} \times 100 = 65.16\%$$

Finalmente determinamos la materia seca digestible (M.S.D.), a partir de la siguiente ecuación:

$$M.S.D. (g) = \frac{M.S. \text{ alimento (g)} * \% D.a.M.S.}{100} \times 100$$
$$M.S.D. (g) = \frac{(91.15\% * 10) * 65.16}{100} = 594 \text{ g}$$

Tabla 24. Registro del coeficiente de digestibilidad de la materia seca y la Materia seca digestible de la alfalfa en ovinos

Digestibilidad de la materia seca en promedio												
	A 1		A. 2		A. 3		A. 4		A 5		A 6	
	"TCO"	"MS"	"TCO"	"MS"	"TCO"	"MS"	"TCO"	"MS"	"TCO"	"MS"	"TCO"	"MS"
	g	g	g	g	g	g	g	g	g	g	g	g
Consumo	501.2 ¹	456.9 ³	527.9	481.2	607.3	553.6	470.1	428.5	511.8	466.5	546.4	498.1
Heces	368.1 ²	159.2 ⁴	390.8	169.9	471.6	191.6	283.7	148.4	352.9	165.8	372.6	169.4
Digerido		297.7 ⁵		311.3		362.0		280.1		300.7		328.7
% D.a.M.S.		65,2 ⁶		64,7		65,4		65,4		64,5		66.0
M. S. D g		593.9 ⁷		589.7		596.0		595.6		587.5		601.5

(Guevara, P., 2024)

Datos reportados por el Laboratorio de Nutrición animal y Valoración de Alimentos

A1 –A6: Numero de animal

TCO: Tal Como Ofrecido

MS: Materia Seca

% D.a.M.S.

M.S.D: Materia seca digestible

1: Consumo promedio de alimento durante los días de ensayo

2: Peso promedio de las heces durante los días de ensayo

3: Consumo promedio de alimento (1) multiplicado por el porcentaje de materia seca reportado por el laboratorio (Tabla 6)

4: Peso promedio de las heces (2) multiplicado por el porcentaje de materia seca reportado por el laboratorio (Tabla 6)

5: Diferencia del consumo en materia seca menos las heces en materia (3 – 4)

6: La materia seca digerida dividido para el consumo de materia seca (5/3) y multiplicada por cien.

7: El porcentaje de materia seca del alimento (tabla 6) multiplicado por el coeficiente de digestibilidad (6) y dividido para 100.

Tabla 25. Registro de la determinación de las cenizas y materia orgánica del heno de alfalfa y de las heces de cada animal

Determinación de la cenizas en base seca		
Cog. Y #	% Cenizas-BS	% MO-BS
Rp – 00019	9,35	90,65
Rhe - 00001	13,64	86,36
Rhe - 00002	14,20	85,80
Rhe - 00003	12,83	87,17
Rhe - 00004	13,92	86,08
Rhe - 00005	13,93	86,07
Rhe - 00006	13,86	86,14

Laboratorio de Nutrición animal y Bromatología FCP

Una vez realizada la determinación de las cenizas tanto del alimento como de las heces se procede a obtener el “Coeficiente de Digestibilidad aparente” de la materia orgánica en % y la materia orgánica digestible (MSD) en g/kg de la siguiente manera:

$$\% \text{ Cenizas (alimento)} = 8.85\%$$

$$\% \text{ Materia Orgánica (alim)} = 100 - 9.85\% = 90.65\%$$

$$\% \text{ Cenizas (heces)} = 56.74\%$$

$$\% \text{ Materia Orgánica (heces)} = 100 - 13.64\% = 86.36\%$$

$$\text{Cantidad MS Ingerida} = 456.9 \text{ g}$$

$$\text{Cantidad de MS Heces} = 159.2 \text{ g}$$

$$\text{C. M. O. I. (g)} = \frac{\text{Cantidad MS. Ingerida} * \% \text{ M. O (alim).}}{100}$$

$$\text{C. M. O. E. (g)} = \frac{\text{Cantidad de MS Heces} * \% \text{ M. O. (heces)}}{100}$$

$$\text{C. M. O. I. (g)} = \frac{456.9 \text{ g} * 90.65\%}{100} = 414.2 \text{ g}$$

$$\text{C. M. O. E. (g)} = \frac{159.2 \text{ g} * 86.36\%}{100} = 137.5 \text{ g}$$

Donde:

C.M.O.I. = Cantidad de materia seca ingerida

C.M.O.E. = Cantidad de materia seca excretada

A continuación, aplicando la formula, procedemos a la determinación del Coeficiente de Digestibilidad Aparente de la Materia Orgánica

$$\% D.a.M.O. = \frac{C.M.O.I. - C.M.O.E.}{C.M.O.I.} \times 100$$

Donde:

$\% D.a.M.O.$ = % Digestibilidad aparente de la Materia Orgánica.

$$\% D.a.M.O. = \frac{414.1\text{g} - 137.5\text{g}}{414.1\text{g}} \times 100 = \mathbf{66.8\%}$$

Finalmente determinamos la materia seca digestible (M.O.D.), a partir de la siguiente ecuación:

$$M.O.D. (g) = \frac{M.O. \text{ alimento (g)} * \% D.a.M.O.}{100} \times 100$$

$$M.O.D. (g) = \frac{(90.65\% * 10) * 66.8}{100} = \mathbf{605.6\text{ g}}$$

Tabla 26. Registro del coeficiente de Digestibilidad de la Materia Orgánica y la Materia Orgánica digestible del heno de alfalfa.

Digestibilidad de la materia orgánica y Materia Orgánica digestible en promedio												
	A. 1		A. 2		A. 3		A. 4		A. 5		A. 6	
	"MS"	"MO"	"MS"	"MO"	"MS"	"MO"	"MS"	"MO"	"MS"	"MO"	"MS"	"MO"
	g	g	g	g	g	g	g	g	g	g	g	g
Consumo	456.9 ¹	414.2 ³	481.2	436.2	553.6	501.8	428	388.4	466.5	422.9	498.1	451.5
Heces	159.2 ²	137.5 ⁴	169.9	145.7	191.6	167.0	148	127.7	165.8	142.7	169.4	145.9
Digerido		276.7 ⁵		290.5		334.8		260.7		280.2		305.6
% <i>D.a.M.O</i>		66,8 ⁶		66,6		66,7		67,1		66,3		67,7
M. O. D		605.6 ⁷		603.6		604.8		608.3		600.6		613.5

Laboratorio de Nutrición animal y Bromatología FCP

A1 – 6: Número de animal

MO: materia orgánica

MS: materia seca

% *D.a.M.O*: Coeficiente de digestibilidad de la materia orgánica

M.O.D: Materia orgánica digestible

1: Consumo promedio (en materia seca) de alimento durante los días de ensayo

2: Peso promedio (en materia seca) de las heces durante los días de ensayo

3: Consumo promedio de alimento en MS (1) multiplicado por el porcentaje de materia orgánica reportado por el laboratorio (Tabla 7)

4: Peso promedio de las heces en MS (2) multiplicado por el porcentaje de materia orgánica reportado por el laboratorio (Tabla 7)

5: Diferencia del consumo en materia orgánica de la materia seca menos las heces en materia orgánica de la materia seca (3 – 4)

6: La materia orgánica de la materia seca digerida dividida para el consumo de materia orgánica de la materia seca (5/3) y multiplicada por cien.

7: El porcentaje de materia orgánica del alimento (tabla 7) multiplicado por el coeficiente de digestibilidad (6) y dividido para 100.

Tabla 27. Registro de la determinación de la Proteína Cruda del heno de alfalfa y de las heces de cada animal

Determinación de la Proteína Bruta en base seca	
Código. Y # de labo.	% PC-BS
Rp - 00019	18,78
Rhe - 00001	10,80
Rhe - 00002	11,12
Rhe - 00003	10,92
Rhe - 00004	11,17
Rhe - 00005	11,62
Rhe - 00006	11,18

Laboratorio de Nutrición animal y Bromatología FCP

Una vez realizada la determinación de la Proteína Cruda tanto del alimento como de las heces se procede a obtener el “Coeficiente de Digestibilidad aparente” de la Proteína en % y la Proteína Cruda Digestible (PCD) en g/kg de la siguiente manera:

% Proteína Cruda BS (alimento)= 18.78%

% Proteína Cruda BS (heces)= 10.80%

Cantidad MS Ingerida = 456.9 g

Cantidad de MS Heces = 159.2 g

$$\text{C. P. C. I. (g)} = \frac{\text{Cantidad MS. Ingerida} * \% \text{ PC} - \text{BS (alim).}}{100}$$

$$\text{C. P. C. E. (g)} = \frac{\text{Cantidad de MS Heces} * \% \text{ PC} - \text{BS(heces)}}{100}$$

$$\text{C. P. C. I. (g)} = \frac{456.9 \text{ g} * 18.78\%}{100} = 85.8 \text{ g}$$

$$\text{C. P. C. E. (g)} = \frac{159.2 \text{ g} * 10.80\%}{100} = 17.2 \text{ g}$$

Donde:

C.P.C.I. = Cantidad de Proteína Cruda ingerida

C.P.C.E. = Cantidad de Proteína Cruda excretada

A continuación, aplicando la formula, procedemos a la determinación del Coeficiente de Digestibilidad Aparente de la Proteína Cruda

$$\% D.a.P.C. = \frac{C.P.C.I. - C.P.C.E.}{C.P.C.I.} \times 100$$

Donde:

$\% D.a.P.C.$ = % Digestibilidad aparente de la Proteína Cruda

$$\% D.a.P.C. = \frac{85.8 \text{ g} - 17.2 \text{ g}}{85.8 \text{ g}} \times 100 = 80.0\%$$

Finalmente determinamos la Proteína Cruda Digestible (P.C.D.), a partir de la siguiente ecuación:

$$P.C.D. (g) = \frac{P.C. \text{ alimento (g)} * \% D.a.P.C.}{100} \times 100$$

$$P.C.D. (g) = \frac{(18.78\% * 10) * 80.0}{100} = 150.2 \text{ g}$$

Tabla 28. Registro del coeficiente de digestibilidad de la Proteína Bruta y la Proteína Bruta digestible del heno de la alfalfa

Digestibilidad de la Proteína Cruda y Proteína Cruda Digestible en promedio												
	A. 1		A. 2		A. 3		A. 4		A. 5		A. 6	
	"MS"	"PC"	"MS"	"PC"	"MS"	"PC"	"MS"	"PC"	"MS"	"PC"	"MS"	"PC"
	g	g	g	g	g	g	g	g	g	g	g	g
Consumo	456.9 ¹	85.8 ³	481.2	90.4	553.6	104.0	428.5	80.5	466.5	87.6	498.1	93.5
Heces	159.2 ²	17.2 ⁴	169.9	18.9	191.6	20.9	148.4	16.6	165.8	19.3	169.4	18.9
Digerido		68.6 ⁵		71.5		83.0		63.9		68.3		74.6
% D.a.P.C:		80.0, ⁶		79,1		79,9		79,4		78,0		79,8
P.C.D.		150.2 ⁷		148.5		150.0		149.1		146.5		149.8

Laboratorio de Nutrición animal y Bromatología FCP

A1 – 6: Número de animal

PC: proteína cruda

MS: materia seca de la Proteína Cruda

% **D.a.P.C:** Coeficiente de digestibilidad

P.C.D: Proteína cruda digestible

1: Consumo promedio (en materia seca) de alimento durante los días de ensayo

2: Peso promedio (en materia seca) de las heces durante los días de ensayo

3: Consumo promedio de alimento en MS (1) multiplicado por el porcentaje de proteína cruda reportado por el laboratorio (Tabla 9)

4: Peso promedio de las heces en MS (2) multiplicado por el porcentaje de proteína cruda reportado por el laboratorio (Tabla 9)

5: Diferencia del consumo de proteína cruda en materia seca menos la proteína cruda de las heces en materia seca (3 – 4)

6: La proteína cruda de la materia seca digerida dividida para el consumo de proteína cruda de la materia seca (5/3) y multiplicada por cien.

7: El porcentaje de proteína cruda del alimento (tabla 9) multiplicado por el coeficiente de digestibilidad (6) y dividido para 100.

Tabla 29. Registro de la determinación de la Fibra Cruda del heno de alfalfa y de las heces de cada animal

Determinación de la Fibra Cruda en base seca	
Cod. Y #	% FC-BS
Rp - 00019	36,60
Rhe - 00001	53,45
Rhe - 00002	53,39
Rhe - 00003	53,41
Rhe - 00004	54,05
Rhe - 00005	53,21
Rhe - 00006	54,34

Laboratorio de Nutrición animal y Bromatología FCP

Una vez realizada la determinación de la Fibra Cruda tanto del alimento como de las heces se procede a obtener el “Coeficiente de Digestibilidad aparente” de la Fibra Cruda en % y la Fibra Cruda Digestible (FCD) en g/kg de la siguiente manera:

% Fibra Cruda BS (alimento)= 36.60%

% Fibra Cruda BS (heces)= 53.45%

Cantidad MS Ingerida = 456.9 g

Cantidad de MS Heces = 159.2 g

$$\text{C. F. C. I. (g)} = \frac{\text{Cantidad MS. Ingerida} * \% \text{ FC} - \text{BS (alim).}}{100}$$

$$\text{C. F. C. E. (g)} = \frac{\text{Cantidad de MS Heces} * \% \text{ FC} - \text{BS(heces)}}{100}$$

$$\text{C. F. C. I. (g)} = \frac{456.9 \text{ g} * 36.60\%}{100} = 167.2 \text{ g}$$

$$\text{C. F. C. E. (g)} = \frac{159.2 \text{ g} * 53.45\%}{100} = 85.1 \text{ g}$$

Donde:

C.F.C.I. = Cantidad de Fibra Cruda ingerida

C.F.C.E. = Cantidad de Fibra Cruda excretada

A continuación, aplicando la formula, procedemos a la determinación del Coeficiente de Digestibilidad Aparente de la Fibra Cruda

$$\% \text{ D. a. F. C.} = \frac{\text{C. F. C. I.} - \text{C. F. C. E.}}{\text{C. F. C. I.}} \times 100$$

Donde:

% **D.a.F.C.** = % Digestibilidad aparente de la Fibra Cruda

$$\% \text{ D.a.F.C.} = \frac{167.2 \text{ g} - 85.1 \text{ g}}{167.2 \text{ g}} \times 100 = 49.1\%$$

Finalmente determinamos la Fibra Cruda Digestible (F.C.D.), a partir de la siguiente ecuación:

$$\text{F.C.D. (g)} = \frac{\text{P.C. alimento (g)} * \% \text{ D.a.P.C.}}{100} \times 100$$

$$\text{F.C.D. (g)} = \frac{(36.60\% * 10) * 49.1}{100} = 179.8 \text{ g}$$

Tabla 30. Registro del coeficiente de digestibilidad de la Fibra cruda y la Fibra cruda digestible del heno de alfalfa en ovinos

Digestibilidad de la Fibra Cruda y Fibra Cruda Digestible												
	A. 1		A. 2		A. 3		A. 4		A. 5		A. 6	
	"MS"	"FC"	"MS"	"FC"	"MS"	"FC"	"MS"	"FC"	"MS"	"FC"	"MS"	"FC"
	g	g	g	g	g	g	g	g	g	g	g	g
Consumo	456.9 ¹	167.2 ³	481.2	176.1	553.6	202.6	428.5	156.8	466.5	170.7	498.1	182.3
Heces	159.2 ²	85.1 ⁴	169.9	90.7	191.6	102.3	148.4	80.2	165.8	88.2	169.4	92.1
Digerido		82.1 ⁵		85.4		100.3		76.6		82.5		90.2
% D. a. F. C:		49,1 ⁶		48,5		49,5		48,85		48,3		49,5
F.C.D.		179.8 ⁷		177.5		181.2		178.8		176.9		181.2

Laboratorio de Nutrición animal y Bromatología FCP

A1 – 6: Número de animal

FC: fibra cruda

MS: materia seca

% **D. a. F. C:** Coeficiente de digestibilidad de la Fibra Cruda

F.C D.: Fibra cruda digestible

1: Consumo promedio (en materia seca) de alimento durante los días de ensayo

2: Peso promedio (en materia seca) de las heces durante los días de ensayo

3: Consumo promedio de alimento en MS (1) multiplicado por el porcentaje de fibra cruda reportado por el laboratorio (Tabla 10)

4: Peso promedio de las heces en MS (2) multiplicado por el porcentaje de fibra cruda reportado por el laboratorio (Tabla 10)

5: Diferencia del consumo de fibra cruda en materia seca menos la fibra cruda de las heces en materia seca (3 – 4)

6: La fibra cruda de la materia seca digerida dividida para el consumo de fibra cruda en materia seca (5/3) y multiplicada por cien.

7: El porcentaje de fibra cruda del alimento (tabla 10) multiplicado por el coeficiente de digestibilidad (6) y dividido para 100.

Tabla 31. Registro de la determinación del Extracto Etéreo del heno de alfalfa y de las heces de cada animal

Determinación del Extracto Etéreo en base seca	
Cog. Y #	% E E-BS
Rp – 00019	1.91
Rhe – 00001	2.94
Rhe – 00002	2.81
Rhe – 00003	2.91
Rhe – 00004	2.88
Rhe – 00005	2.82
Rhe – 00006	2.87

Laboratorio de Nutrición animal y Bromatología FCP

Una vez realizada la determinación de la Extracto Etéreo tanto del alimento como de las heces se procede a obtener el “Coeficiente de Digestibilidad aparente” del Extracto Etéreo % y la Extracto Etéreo Digestible (EED) en g/kg de la siguiente manera:

% Extracto Etéreo BS (alimento)= 1.91%

% Extracto Etéreo BS (heces)= 2.94%

Cantidad MS Ingerida = 456.9 g

Cantidad de MS Heces = 159.2 g

$$\text{C. E. E. I. (g)} = \frac{\text{Cantidad MS. Ingerida} * \% \text{ E. E. -BS (alim).}}{100}$$

$$\text{C. E. E. E. (g)} = \frac{\text{Cantidad de MS Heces} * \% \text{ E. E. -BS(heces)}}{100}$$

$$\text{C. E. E. I. (g)} = \frac{456.9 \text{ g} * 1.91\%}{100} = 8.7 \text{ g}$$

$$\text{C. E. E. E. (g)} = \frac{159.2 \text{ g} * 2.94\%}{100} = 4.7 \text{ g}$$

Donde:

C.E.E.I. = Cantidad de Extracto Etéreo ingerido

C.E.E.E. = Cantidad de Extracto Etéreo excretado

A continuación, aplicando la formula, procedemos a la determinación del Coeficiente de Digestibilidad Aparente de Extracto Etéreo

$$\% \text{ D. a. E. E.} = \frac{\text{C. E. E. I.} - \text{C. E. E. E.}}{\text{C. E. E. I.}} \times 100$$

Donde:

% D.a.E.E. = % Digestibilidad aparente del Extracto Etéreo

$$\% D. a. E. E. = \frac{8.7 \text{ g} - 4.7 \text{ g}}{8.7 \text{ g}} \times 100 = \mathbf{46.4\%}$$

Finalmente determinamos la Extracto Etéreo (E.E.D.), a partir de la siguiente ecuación:

$$E. E. D. (g) = \frac{E. E. alimento (g) * \% D. a. E. E.}{100} \times 100$$

$$E. E. D. (g) = \frac{(1.19\% * 10) * 46.4}{100} = \mathbf{8.9 \text{ g}}$$

Tabla 32. Registro del coeficiente de digestibilidad del Extracto etéreo y Extracto etéreo digestible del heno de alfalfa en ovinos

Digestibilidad del Extracto Etéreo y Extracto Etéreo Digestible												
	A. 1		A. 2		A. 3		A. 4		A. 5		A. 6	
	"MS"	"EE"	"MS"	"EE"	"MS"	"EE"	"MS"	"EE"	"MS"	"EE"	"MS"	"EE"
Consumo	456.9 ¹	8.7 ³	481.2	9.2	553.6	10.6	428.5	8.2	466.5	8.9	498.1	9.5
Heces	159.2 ²	4.7 ⁴	169.9	4.8	191.6	5.6	148.4	4.3	165.8	4.7	169.4	4.9
Digerido		4.0 ⁵		4.4		5.0		3.9		4.2		4.7
% <i>D.a.E.E.</i> :		46,4 ⁶		48,1		47,3		47,8		47,5		48,8
E.E.D.		8.9 ⁷		9.2		9.0		9.1		9.1		9.3

Laboratorio de Nutrición animal y Bromatología FCP

A1 – 6: Número de animal

EE: extracto etéreo

MS: materia seca

% *D.a.E.E.*: Coeficiente de digestibilidad

E.E.D: Extracto Etéreo Digestible

1: Consumo promedio (en materia seca) de alimento durante los días de ensayo

2: Peso promedio (en materia seca) de las heces durante los días de ensayo

3: Consumo promedio de alimento en MS (1) multiplicado por el porcentaje de extracto etéreo reportado por el laboratorio (Tabla 13)

4: Peso promedio de las heces en MS (2) multiplicado por el porcentaje de extracto etéreo reportado por el laboratorio (Tabla 13)

5: Diferencia del consumo de extracto etéreo en materia seca menos el extracto etéreo de las heces en materia seca (3 – 4)

6: El extracto etéreo en materia seca digerido dividido para el consumo de extracto etéreo en materia seca (5/3) y multiplicado por cien.

7: El porcentaje de extracto etéreo del alimento (tabla 13) multiplicado por el coeficiente de digestibilidad (6) y dividido para 100

Tabla 33. Registro de la determinación del Extracto Libre de Nitrógeno (ELN) del heno de alfalfa y de las heces de cada animal

Determinación del Extracto Libre de Nitrógeno base seca					
	Cenizas	P.C	F. C	E.E.	E. L.N
Cog. Y #	%	%	%	%	%
Rp – 00019	9,35	18,78	36,60	1,91	33,36
Rhe – 00001	13,64	10,80	53,45	2,94	19,17
Rhe – 00002	14,20	11,12	53,39	2,81	18,48
Rhe – 00003	12,83	10,92	53,41	2,91	19,93
Rhe – 00004	13,92	11,17	54,05	2,88	17,98
Rhe – 00005	13,93	11,62	53,21	2,82	18,42
Rhe – 00006	13,86	11,18	54,34	2,87	17,75

Laboratorio de Nutrición animal y Bromatología FCP

Una vez realizada la determinación de la Extracto Libre de Nitrógeno (E.L.N.), tanto del alimento como de las heces se procede a obtener el “Coeficiente de Digestibilidad aparente” del E.L.N. % y E.L.N.D Digestible (ELN.D) en g/kg de la siguiente manera:

% E.L.N. BS (alimento)= 33.36%

% E.L.N BS (heces)= 19.17%

Cantidad MS Ingerida = 456.9 g

Cantidad de MS Heces = 159.2 g

$$\text{C. E. L. N. I. (g)} = \frac{\text{Cantidad MS. Ingerida} * \% \text{ E. L. N. –BS (alim).}}{100}$$

$$\text{C. E. L. N. E. (g)} = \frac{\text{Cantidad de MS Heces} * \% \text{ E. L. N. –BS(heces)}}{100}$$

$$\text{C. E. L. N. I. (g)} = \frac{456.9 \text{ g} * 33.36\%}{100} = 152.4 \text{ g}$$

$$\text{C. E. L. N. E. (g)} = \frac{159.2 \text{ g} * 19.17\%}{100} = 30.5 \text{ g}$$

Donde:

C.E.L.N.I. = Cantidad de E.L.N. ingerido

C.E.L.N.E. = Cantidad de E.L.N. excretado

A continuación, aplicando la formula, procedemos a la determinación del Coeficiente de Digestibilidad Aparente de E.L.N.

$$\% \text{ D. a. E. L. N.} = \frac{\text{C. E. L. N. I.} - \text{C. E. L. N. E.}}{\text{C. E. L. N. I.}} \times 100$$

Donde:

% D.a.E.L.N. = % Digestibilidad aparente del E.L.N.

$$\% D.a.E.L.N. = \frac{152.4 \text{ g} - 30.5 \text{ g}}{152.4 \text{ g}} \times 100 = \mathbf{80.0\%}$$

Finalmente determinamos la E.L.N. Digestible (E.L.N.D.), a partir de la siguiente ecuación:

$$E.L.N.D. (g) = \frac{E.L.N. \text{ alimento (g)} * \% D.a.E.L.N.}{100} \times 100$$

$$E.L.N.D. (g) = \frac{(33.36\% * 10) * 46.4}{100} = \mathbf{266.8 \text{ g}}$$

.

Tabla 34. Registro del coeficiente de digestibilidad del Extracto Libre de Nitrógeno y Extracto Libre de Nitrógeno digestible del heno de alfalfa en ovinos

	A. 1		A. 2		A. 3		A. 4		A. 5		A. 6	
	"MS"	"ELN"	"MS"	"ELN"	"MS"	"ELN"	"MS"	"ELN"	"MS"	"ELN"	"MS"	"ELN"
	g	g	g	g	g	g	g	g	g	g	g	g
Consumo	456.9 ¹	152.4 ³	481.2	160.5	553.6	184.7	428.5	142.9	466.5	155.6	498.1	166.2
Heces	159.2 ²	30.5 ⁴	169.9	31.4	191.6	38.2	148.4	26.7	165.8	30.5	169.4	30.1
Digerido		121.9 ⁵		129.1		146.5		116.3		125.1		136.1
% <i>D.a.E.L.N</i>		80.0 ⁶		80,4		79,3		81,3		80,4		81,9
E. L. N.D.		266.8 ⁷		268.4		264.6		271.3		268.1		273.2

Laboratorio de Nutrición animal y Bromatología FCP

A1 – 6: Número de animal

ELN: extracto libre de nitrógeno

MS: materia seca

% *D.a.E.L.N*: Coeficiente de digestibilidad del E.L.N.

E.L.N.D.: Extracto Libre de Nitrógeno. Digestible

1: Consumo promedio (en materia seca) de alimento durante los días de ensayo

2: Peso promedio (en materia seca) de las heces durante los días de ensayo

3: Consumo promedio de alimento en MS (1) multiplicado por el porcentaje de extracto libre de Nitrógeno reportado por el laboratorio (Tabla 14)

4: Peso promedio de las heces en MS (2) multiplicado por el porcentaje de extracto libre de Nitrógeno reportado por el laboratorio (Tabla 14)

5: Diferencia del consumo de extracto libre de Nitrógeno en materia seca menos el extracto libre de Nitrógeno de las heces en materia seca (3 – 4)

6: La materia orgánica de la materia seca digerida dividida para el consumo de materia orgánica de la materia seca (5/3) y multiplicada por cien.

7: El porcentaje de materia orgánica del alimento (tabla 14) multiplicado por el coeficiente de digestibilidad (6) y dividido para 100.

Es el mejor sistema para conocer el valor de la energía aprovechada en las diferentes especies animales

Tabla 35. Coeficientes de digestibilidad de la materia seca, materia orgánica, Proteína Cruda, Fibra Cruda, Extracto Etéreo y Extracto Libre de Nitrógeno de diferentes concentrados

CONCENTRADOS	CÓDIGOS	Coefic D.	Coefic D.	Coefic D.	Coefic D.	Coefic D.	Coefic D.
		Mat. Seca	Mat. Org.	Prot. Cruda	Fibra Cruda	Ext. Ete.	E.L.N.
		%	%	%	%	%	%
Alfarina I (Provincia Chimborazo)	Rp-1234	60,43	62,39	74,91	43,09	40,07	73,67
Alfarina II (Provincia Tungurahua)	Rp-1235	57,21	63,36	70,58	43,58	38,69	79,82
Alfarina III (Provincia Azuay)	Rp-1248	58,72	65,38	75,81	41,53	55,03	85,13
Alfarina IV (Provincia Cotopaxi)	Rp-1473	51,03	54,02	67,73	41,60	30,04	58,24
Afrecho de trigo Fino (Riobamba)	Rco -89	66,83	70,49	84,86	28,60	32,62	79,32
Afrecho de trigo Fino (Bolivar)	Rco-1384	78,24	74,35	93,40	46,51	93,22	76,95
Afrecho de trigo medio (Ambato)	Rco-551	67,97	71,15	82,05	7,39	58,30	79,64
Afrecho de trigo grueso (Azuay)	Rco-968	65,56	67,28	64,81	28,45	80,36	86,92
Algodón pepa (Provincia Azuay)	Rco - 258	60,52	61,49	75,27	53,48	88,09	42,07
Avena en grano (Riobamba)	Rco-647	76,46	75,48	83,38	84,76	99,96	72,00
Banano Fresco (Prov. Guayas)	Rco – 255	77,66	79,37	2,23	1,11	83,55	85,29
Banano Fresco (Prov. El Oro)	Rf-948	91,21	87,78	20,22	61,25	41,31	94,90
Cebada grano(Chimborazo)	Rco-635	63,42	66,00	69,32	46,98	94,28	70,52
Hna.Banano (Machala)	Rf-907	90,72	85,69	28,26	41,05	70,57	97,36
Hna.Banano (Prov. Guayas)	Rf-906	72,05	74,16	5,58	11,15	5,66	93,33
Higuerrilla Torta (Provincia Azuay)	Rco 686	62,93	62,76	85,93	30,87	79,09	55,79
Hna.Pescado Exportación (Manta)	Rco -43	79,07	87,55	93,66	1,52	89,38	59,12
Hna. Pescado Pampa (Portoviejo)	Rco - 44	40,63	42,09	71,40	0,68	73,45	31,45

Hna. Pescado Pampa (Manta)	Rpa - 1188	88,44	95,50	89,50	100,00	97,07	96,25
Maíz importado (AFABA)	Rco – 40	91,12	91,91	74,59	52,92	86,50	95,15
Maíz Nacional (Quevedo)	Rco - 41	89,97	91,03	75,71	15,66	82,08	96,37
Maíz Nacional (Prov. Los Rios)	Rco-666	89,29	90,37	73,92	98,60	100,00	83,85
Maíz Nacional (Prov. Guayas)	Rco-951	82,43	80,33	64,83	50,00	92,27	93,44
Maíz Nacional (Prov. El oro)	Rco-1437	88,98	82,45	81,24	45,23	94,80	96,60
Palmiste Torta (AFABA)	Rp - 235	84,94	85,44	76,30	86,76	94,66	87,33
Palmiste Torta (Esmeraldas)	Rp - 665	49,45	53,82	36,34	51,58	98,07	60,90
Polvillo Fino arroz (Los Rios)	Rco-1246	79,76	85,95	90,22	52,39	95,91	80,77
Polvillo Medio arroz (Prov. Guayas)	Rco – 88	69,32	72,82	80,43	0,60	84,47	87,18
Polvillo grueso arroz (Quevedo)	Rco - 87	63,91	69,02	69,54	11,48	85,59	84,38
Polvillo grueso arroz (Esmeraldas)	Rco - 967	76,81	80,64	73,26	88,20	90,34	71,83
Polvillo de avena (Prov. Bolivar)	Rco-1247	53,20	54,53	68,64	27,33	77,24	59,16
Poroto de soya (Canadiense)	Rco – 38	87,07	89,60	92,08	49,59	90,15	93,43
Semita de trigo 1 (AFABA)	Rco –315	75,61	77,32	79,32	30,24	81,27	84,26
Semita de trigo 2 (Riobamba)	Rco - 543	76,46	78,64	85,22	36,70	76,16	82,78
Torta de algodón (AFABA)	Rco – 234	74,16	76,49	82,81	47,18	90,35	80,39
Torta de soya importada 1 (Boliviana)	Rco – 65	87,39	92,17	93,27	82,31	61,12	94,46
Torta de soya nacional (Quevedo)	Rco – 39	90,84	92,89	94,46	61,56	2,10	99,75
Torta de soya importada (Bolivia)	Rco - 829	83,87	83,44	93,54	83,24	97,86	93,82
Torta de soya importada (U.S.A.)	Rco - 965	96,95	98,40	96,16	91,57	20,14	95,26

Laboratorio de Nutrición animal y Bromatología FCP

Tabla 36. Coeficientes de digestibilidad de la materia seca, materia orgánica, Proteína Cruda, Fibra Cruda, Extracto Etéreo y Extracto Libre de Nitrógeno de diferentes forrajes de clima templado

PASTOS DE CLIMA TEMPLADO (HENOS)	CÓDIGOS	Coefic D. Mat. Seca	Coefic D. Mat. Org.	Coefic D. Prot. Cruda	Coefic D. Fibra Cruda	Coefic D. Ext. Ete.	Coefic D. E.L.N.
	%	%	%	%	%	%	%
Alfalfa 35 días Heno (Chimborazo)	Rp - 361	62,07	67,67	80,07	25,09	78,01	83,97
Alfalfa 35 días Heno (Chimborazo)	Rp - 3	65,11	68,11	80,9	40,93	55,94	83,47
Alfalfa 40 días Heno (Tungurahua)	Rp - 171	72,86	74,65	85,53	59,8	36,65	82,61
Alfalfa 42 días Heno (Chimborazo)	Rp - 362	61,6	62,89	80,28	28,22	55,02	81,38
Alfalfa 42 días Heno (Chimborazo)	Rp - 6	63,03	65,87	78	39,22	49,66	82,96
Alfalfa 45 días Heno (Tungurahua)	Rp - 739	45,02	45,99	70,15	10,86	17,36	57,82
Alfalfa 46 días Heno (Tungurahua)	Rp - 645	56,97	59,6	75,21	32,22	45,41	77,23
Alfalfa 49 días Heno (Chimborazo)	Rp - 9	61,51	63,39	77,18	38,92	48,77	79,16
Alfalfa 50 días Heno (Tungurahua)	Rp - 172	70,34	72,18	84,88	64,66	20,2	75,59
Alfalfa 50 días Heno (Chimborazo)	Rp - 426	60,23	62,79	77,85	37,64	39,86	79,3
Alfalfa 56 días Heno (Chimborazo)	Rp - 12	60,58	62,32	78,57	35,97	52,02	78,63
Alfalfa 60 días Heno Chimborazo)	Rp - 173	65,19	67,43	83,66	53,13	4,23	77,93
Alfalfa 63 días Heno (Chimborazo)	Rp - 15	60,38	63,57	78	36,88	53,08	80,27
Alfalfa 70 días Heno (Chimborazo)	Rp - 18	60,59	62,79	75,68	40,22	42,2	77,2
Avena pasto 42 días heno	Rp - 883	62,82	68,51	73,74	69,53	43,22	68,14
Avena Forrajera 60 días Heno	Rp - 646	69,82	73,1	67,24	64,2	40,35	80,22
Avena Forrajera 70 Heno	Rp - 734	57,31	59,21	66,86	59,48	16,1	58,54
Avena Forrajera 100 días Heno	Rp - 132	56,99	60,39	52,57	58,8	47,14	63,85
Avena Forrajera Heno 105 días	Rp - 311	73,54	75,57	60,88	72,28	70,62	79,96
Avena Forrajera Heno 120 días	Rp -133	57,41	61,04	42,95	55,62	42,78	67,86

Calcha (Hojas de maíz)	Rp - 358	71,87	75,1	71,02	77,41	72,62	74,37
Estipa Heno 70 días	Rp - 193	63,64	66,71	67,96	53,72	53,8	77,8
Kikuyo Heno 75 días	Rp - 192	54,69	57,8	49,35	53,21	79,92	62,57
Pasto Azul Heno 50 días	Rp - 443	67,72	71,54	74,23	73,19	70,42	68,73
Morera Heno	Rp - 385	59,49	64,75	69,23	45	27,84	76,5
Rye Grass Heno 42 días	Rp - 177	68,47	72,46	77,32	69,02	64,72	74,27
Rye Grass Heno 45 días	Rp - 158	63,64	69,77	74,01	71,7	69,17	65,77
Rye Grass Heno 49 días	Rp - 185	66,57	73	76,52	70,14	63,87	74,95
Rye Grass Heno 56 días	Rp - 188	61,7	68,64	72,75	67,36	59,14	68,24
Rye Grass Heno 60 días	Rp - 159	64,33	69,08	74,36	65,79	64,56	70,03
Rye Grass Heno 63 días	Rp - 194	61,6	67,28	71,44	86,98	55,58	70,54
Rye Grass Heno 70 días	Rp - 202	57,55	62,48	57,5	60,31	62,63	65,53
Rye Grass Heno 75 días	Rp - 160	66,71	70,44	67,94	60,31	92,9	77,72
Rye Grass Heno 75 días	Rp - 335	69,02	73,21	64,62	70,42	69,09	77,23
Trébol Heno 65 días	Rp - 194	74,57	77,56	75,76	62,44	94,34	85,53
Vicia Heno 105 días	Rp - 313	74,35	76,65	79,1	62,5	76,86	86,48
Ensilaje de Alfalfa + banano	Rp - 261	60,67	63,72	58,58	24,25	49,93	82,41
Ensilaje de avena + melaza	Rp - 256	67,24	68,71	52,13	78,12	68,87	57,96
Ensilaje de Calcha sola	Rp - 251	58,43	61,39	42,25	57,86	72,81	65,4
Ensilaje de avena 80 días	Rp - 483	67,94	72,26	51,77	78,14	74,02	68,34
Ensilaje de hojas de maíz 70% + Alfalfa 30%	Rp - 424	64,97	73,52	61,56	61,01	71,73	82,33
Ensilaje de maíz	Rp - 562	71,96	76,33	64,34	72,82	69,43	81,3

Laboratorio de Nutrición animal y Bromatología FCP

Tabla 37. Coeficientes de digestibilidad de la materia seca, materia orgánica, Proteína Cruda, Fibra Cruda, Extracto Etéreo y Extracto Libre de Nitrógeno de diferentes forrajes de clima cálido

HENOS CLIMA CALIDO	CÓDIGOS	Coefic D. Mat. Seca	Coefic D. Mat. Org.	Coefic D. Prot. Cruda	Coefic D. Fibra Cruda	Coefic D. Ext. Ete.	Coefic D. E.L.N.
	%	%	%	%	%	%	%
Brachiaria 40 días Heno	Rp - 464	54,36	57,67	60,75	60,35	40,07	55,32
Caraca Heno	Rp - 413	52,35	53,88	64,13	48,5	14,07	58,03
Elefante 75 días Heno	Rp - 733	60,5	62,28	66,93	62,66	51,43	59,92
Elefante 90 días Heno (Sto. Domingo)	Rp - 821	53,56	55,16	66,52	56,4	51,43	59,92
Elefante 90 días Heno (Quevedo)	Rp - 414	60,3	64,56	57,62	74,65	40,07	54,72
Gramalote 180 días Heno (Quevedo)	Rp - 415	59,75	61,17	57,24	68,41	39,75	55,2
Gramalote 210 días Heno (Sto Domingo)	Rp - 811	51,94	54,93	72,35	57,95	59,41	54,29
King Grass 50 días Heno	Rp - 217	62,07	65,52	41,6	54,21	79,25	79,54
King Grass 60 días Heno	Rp - 356	54,37	57,7	37,91	64,88	34,09	53,57
Kudzu 45 días Heno	Rp - 384	60,13	60,76	75,81	51,75	52,93	61,75
Kudzu 55 días Heno	Rp - 463	60,51	62,44	69,29	48,84	71,9	72,89
Kudzu 65 días Heno	Rp - 514	58,79	59,96	74,93	49,57	61,26	65,14
Maralfalfa 120 días Heno Puyo	Rp - 334	55,43	62,11	37,11	80,91	63,12	43,21
Maralfalfa 120 días Heno Quevedo	Rp - 462	62,23	65,57	50,93	77,25	28,58	57,19
Maní forrajero 50 días Heno	Rp - 441	63,56	67,88	63,63	51,99	28,76	81,13
Maní forrajero 40 días Heno	Rp - 320	73,16	75,67	79,32	53,86	40,43	92,23
Saboya 50 días Heno (Sto. Domingo)	Rp - 304	50,09	55,37	60,76	56,12	28,32	53,61
Saboya 50 días Heno (Puyo)	Rp - 384	49,81	52,5	60,73	57,51	51,84	48,33
Saboya 65 días Heno	Rp - 357	52,12	55,63	32,42	63,94	13,44	49,91
Saboya 70 días Heno	Rp - 161	51,69	56,64	40,19	64,47	78,41	45,62
Saboya 60 días Heno (Quevedo)	Rp - 971	70,51	71,81	73,48	72,68	78,64	69,24
Tanzania Heno	Rp - 741	51,89	52,41	68,1	54,53	53,53	45,07
Yuca Ratón 60 días Heno	Rp - 383	64,32	64,16	85,41	48,17	54,96	66,85

Yuca ratón 70 días Heno	Rp - 485	60,66	61,29	80,74	38,04	62,94	65,79
Yuca ratón 80 días Heno	Rp - 528	74,99	75,79	87,61	46,35	66,49	84,2

Laboratorio de Nutrición animal y Bromatología FCP

Tabla 38. Nutrientes Digeribles parciales de la materia seca, materia orgánica, Proteína Cruda, Fibra Cruda, Extracto Etéreo y Extracto Libre de Nitrógeno de diferentes concentrados en g/kg de la materia seca

CONCENTRADOS	CÓDIGOS	Materia Seca Dig. g/kg	Materia Org, Dig. g/kg	Prot. Cruda Digerible g/kg	Fibra Cruda Digerible g/kg	Ext. Ete. Digerible g/kg	E.L.N. Digerible g/kg
Alfarina I (Provincia Chimborazo)	Rp-1234	554,1	537,2	161,1	132,7	5,6	238,7
Alfarina II (Provincia Tungurahua)	Rp-1235	529,8	556,3	122,8	140,8	9,7	284,2
Alfarina III (Provincia Azuay)	Rp-1248	550,8	583,8	138,0	140,0	13,8	297,1
Alfarina IV (Provincia Cotopaxi)	Rp-1473	464,4	471,1	129,4	126,0	4,8	210,8
Afrecho de trigo Fino (Riobamba)	Rco -89	613,7	678,3	116,8	41,3	13,5	506,9
Afrecho de trigo Fino (Bolivar)	Rco-1384	711,4	704,8	155,3	56,9	37,8	476,0
Afrecho de trigo medio (Ambato)	Rco-551	605,8	674,8	140,8	7,3	35,1	491,5
Afrecho de trigo grueso (Azuay)	Rco-968	587,0	596,2	54,1	62,2	13,0	493,4
Algodón pepa (Cotopaxi)	Rco - 258	557,6	594,9	145,9	189,3	159,2	100,5
Avena en grano (Riobamba)	Rco-647	614,4	722,2	72,9	113,7	40,1	500,5
Banano Fresco (Prov. Guayas)	Rco – 255	151,0	754,3	0,9	0,3	16,3	736,8
Banano Fresco (Prov. El Oro)	Rf-948	202,9	822,1	8,2	28,8	5,2	793,5
Cebada grano (Chimborazo)	Rco-635	522,0	617,1	66,5	71,4	29,2	462,6
Hna. Banano (Machala)	Rf-907	848,1	828,8	11,1	11,5	3,8	871,1
Hna. Banano (Prov. Guayas)	Rf-906	651,9	699,7	2,1	5,1	0,8	789,9
Higuerilla Torta (Manta)	Rco 686	579,6	543,9	379,7	65,2	7,1	114,1
Hna. Pescado Exportación (Manta)	Rco -43	736,7	742,5	607,8	0,2	74,9	59,6
Hna. Pescado Pampa (Portoviejo)	Rco - 44	383,6	255,7	90,8	0,2	43,0	121,7
Hna. Pescado Pampa (Manta)	Rpa - 1188	805,7	619,3	395,6	73,5	128,0	1,1
Maíz importado (AFABA)	Rco – 40	813,9	903,1	55,4	16,7	32,6	798,3

Maíz Nacional (Quevedo)	Rco - 41	804,1	894,8	60,9	5,8	33,2	795,1
Maíz Nacional (Prov. Los Ríos)	Rco-666	790,5	888,9	68,4	40,0	53,1	668,5
Maíz Nacional (Prov. Guayas)	Rco-951	709,1	794,6	63,1	16,7	15,1	787,0
Maíz Nacional (Prov. El oro)	Rco-1437	789,1	817,4	74,9	23,7	33,3	784,2
Palmiste Torta (AFABA)	Rp - 235	790,5	820,3	116,2	383,0	14,6	306,4
Palmiste Torta (Esmeraldas)	Rp - 665	465,2	520,8	44,5	221,9	62,2	214,1
Polvillo Fino arroz (Los Ríos)	Rco-1246	722,5	758,4	128,8	57,1	176,3	360,9
Polvillo Medio arroz (Prov. Guayas)	Rco – 88	635,2	671,0	70,7	0,9	79,7	519,9
Polvillo grueso arroz (Quevedo)	Rco - 87	588,0	606,9	62,3	19,4	112,8	412,3
Polvillo grueso arroz (Esmeraldas)	Rco - 967	690,7	717,4	102,9	96,8	130,5	355,6
Polvillo de avena (Prov. Bolívar)	Rco-1247	493,3	528,1	38,4	81,3	22,4	346,7
Poroto de soya (canadiense)	Rco – 38	811,9	844,8	332,0	28,4	169,8	361,2
Semita de trigo 1 (AFABA)	Rco –315	686,4	743,3	119,1	32,6	29,2	562,4
Semita de trigo 2 (Riobamba)	Rco - 543	687,8	752,0	155,0	32,7	34,9	529,4
Torta de algodón (AFABA)	Rco – 234	681,0	715,6	350,9	68,6	13,6	282,7
Torta de soya importada 1 (boliviana)	Rco – 65	802,8	859,2	439,3	68,3	10,3	341,0
Torta de soya nacional (Quevedo)	Rco – 39	840,7	864,8	429,0	50,0	0,2	386,0
Torta de soya importada (Bolivia)	Rco - 829	760,4	773,4	442,2	87,2	14,3	314,2
Torta de soya importada (U.S.A.)	Rco - 965	860,2	916,2	466,4	61,4	3,2	346,1

Laboratorio de Nutrición animal y Bromatología FCP

Tabla 39. Nutrientes Digeribles parciales de la materia seca, materia orgánica, Proteína Cruda, Fibra Cruda, Extracto Etéreo y Extracto Libre de Nitrógeno forrajes de clima templado

PASTOS DE CLIMA TEMPLADO (HENOS)	CÓDIGOS	Materia Seca Dig. g/kg	Materia Org. Dig. g/kg	Prot. Cruda Digerible g/kg	Fibra Cruda Digerible g/kg	Ext. Ete. Digerible g/kg	E.L.N. Digerible g/kg
Alfalfa 35 días Heno	Rp - 361	480,7	601,4	228,7	55,8	34,1	282,9
Alfalfa 35 días Heno (Chimborazo)	Rp - 3	590,7	606,2	175,3	118,8	15,7	296,4
Alfalfa 40 días Heno (Tungurahua)	Rp - 171	672,1	654,9	196,2	177,5	7,0	274,2
Alfalfa 42 días Heno (Chimborazo)	Rp - 362	530,8	566,5	199,1	82,9	15,8	269,0
Alfalfa 42 días Heno (Chimborazo)	Rp - 6	582,8	589,9	152,2	121,4	11,5	305,1
Alfalfa 45 días Heno (Tungurahua)	Rp - 739	380,5	404,5	155,2	28,8	3,0	217,6
Alfalfa 46 días Heno (Tungurahua)	Rp - 645	484,5	525,9	150,5	101,6	11,3	264,3
Alfalfa 49 días Heno (Chimborazo)	Rp - 9	562,3	568,9	140,9	124,8	10,7	294,7
Alfalfa 50 días Heno (Tungurahua)	Rp - 172	648,8	633,2	185,6	246,9	3,1	197,6
Alfalfa 50 días Heno (Chimborazo)	Rp - 426	516,4	549,0	156,9	122,3	8,3	259,5
Alfalfa 56 días Heno (Chimborazo)	Rp - 12	555,8	559,5	155,6	117,0	15,3	271,3
Alfalfa 60 días Heno	Rp - 173	605,0	593,0	172,4	201,5	0,6	218,5
Alfalfa 63 días Heno (Chimborazo)	Rp - 15	553,3	583,9	154,8	122,4	13,2	291,6
Alfalfa 70 días Heno (Chimborazo)	Rp - 18	558,5	567,7	151,1	130,6	9,0	276,7
Avena pasto 42 días Heno	Rp - 883	523,5	555,4	102,1	207,5	15,5	230,4
Avena Forrajera 60 días Heno	Rp - 646	606,4	628,9	99,7	162,0	7,0	369,8
Avena Forrajera 70 Heno	Rp - 734	494,6	524,7	66,3	215,3	2,5	239,0
Avena Forrajera 100 días Heno	Rp - 1139	522,0	568,8	42,8	194,2	7,3	320,1
Avena Forrajera 100 días Heno	Rp - 132	482,4	535,8	44,6	216,4	8,9	265,4
Avena Forrajera Heno 105 días	Rp - 311	670,2	699,0	43,6	230,3	18,2	407,0

Avena Forrajera Heno 120 días	Rp -133	512,5	547,3	24,2	206,1	6,1	309,0
Calcha (Hojas de maíz)	Rp - 358	307,5	663,2	68,3	253,6	12,9	328,4
Estipa Heno 70 días	Rp - 193	595,4	612,3	75,6	194,9	7,7	334,0
Kikuyo Heno 75 días	Rp - 192	513,6	506,3	55,4	178,1	20,2	252,5
Pasto Azul Heno 50 días	Rp - 443	608,5	623,9	152,4	204,6	31,2	235,7
Morera Heno	Rp - 385	545,2	565,9	100,5	114,7	6,8	344,3
Rye Grass Heno 42 días	Rp - 177	555,3	608,3	137,1	171,2	27,1	276,4
Rye Grass Heno 45 días	Rp - 158	593,2	586,8	122,5	233,8	12,7	217,8
Rye Grass Heno 49 días	Rp - 185	535,0	618,7	131,9	181,1	27,1	280,6
Rye Grass Heno 56 días	Rp - 188	506,4	565,0	111,3	191,8	18,9	241,2
Rye Grass Heno 60 días	Rp - 159	593,4	601,2	108,5	208,2	13,2	271,4
Rye Grass Heno 63 días	Rp - 194	515,1	567,1	94,5	270,8	16,8	260,3
Rye Grass Heno 70 días	Rp - 202	467,9	516,9	55,0	183,6	20,6	258,5
Rye Grass Heno 75 días	Rp -160	609,1	634,0	63,3	204,0	15,2	351,4
Rye Grass Heno 75 días Quevedo	Rp - 335	633,9	660,0	61,4	227,0	19,2	352,4
Trébol Heno 65 días	Rp - 194	673,2	709,3	140,6	155,5	30,0	383,2
Vicia Heno 105 días	Rp - 313	679,1	714,4	118,5	200,0	30,5	365,4
Ensilaje de Alfalfa + banano	Rp - 261	133,9	580,4	87,9	51,9	15,9	424,3
Ensilaje de avena + melaza	Rp - 256	206,0	617,3	48,2	388,9	13,6	167,2
Ensilaje de Calcha sola	Rp - 251	135,7	559,4	23,0	192,4	11,0	332,9
Ensilaje de avena 80 días	Rp - 483	135,0	633,2	37,9	360,9	44,6	192,0
Ensilaje de hojas de maíz 70% + Alfalfa 30%	Rp - 424	116,2	665,6	56,9	177,0	31,5	394,3
Ensilaje de maíz	Rp - 562	129,2	704,3	51,2	242,5	14,5	397,8

Laboratorio de Nutrición animal y Bromatología FCP

Tabla 40. Nutrientes Digeribles parciales de la materia seca, materia orgánica, Proteína Cruda, Fibra Cruda, Extracto Etéreo y Extracto Libre de Nitrógeno forrajes de clima cálido

HENOS CLIMA CALIDO	CÓDIGOS	Materia Seca	Materia Org,	Proteína. Cruda	Fibra Cruda	Ext. Ete.	E.L.N.
		Dig. g/kg	Dig. g/kg	Dig. g/kg	Dig g/kg	Digerible g/kg	Digerible g/kg
Brachiaria 40 días Heno	Rp - 464	492,3	539,7	41,0	253,3	7,3	238,2
Caraca Heno	Rp - 413	483,9	493,9	99,0	198,0	2,7	194,2
Elefante 75 días Heno	Rp - 733	495,7	529,7	68,7	223,5	8,6	224,3
Elefante 90 días Heno (Sto. Domingo)	Rp - 821	447,0	472,2	59,6	208,2	8,6	228,0
Elefante 90 días Heno (Quevedo)	Rp - 414	559,8	553,7	49,8	317,3	7,6	179,1
Gramalote 180 días Heno (Quevedo)	Rp - 415	553,8	542,5	49,3	274,5	4,7	213,9
Gramalote 210 días Heno (Sto Domingo)	Rp - 811	484,0	500,3	27,8	239,7	8,8	241,0
King Grass 50 días Heno	Rp - 217	581,9	573,7	23,6	216,5	6,7	326,9
King Grass 60 días Heno	Rp - 356	446,0	492,1	22,7	267,0	3,5	198,9
Kudzú 45 días Heno	Rp - 384	557,8	550,5	174,4	198,8	17,6	159,6
Kudzú 55 días Heno	Rp - 463	548,4	585,6	134,3	184,2	24,6	242,4
Kudzú 65 días Heno	Rp - 514	536,8	564,0	149,3	214,4	14,2	186,0
Maralfalfa 120 días Heno Puyo	Rp - 334	507,1	479,9	35,8	322,3	5,5	116,2
Maralfalfa 120 días Heno Quevedo	Rp - 462	526,7	542,5	46,5	302,7	3,5	189,9
Maní forrajero 50 días Heno	Rp - 441	574,8	629,7	96,5	160,5	3,5	369,1
Maní forrajero días	Rp - 320	130,3	695,0	120,4	168,0	7,7	401,8
Saboya 50 días (Sto. Domingo)	Rp - 304	102,9	463,8	58,3	229,2	3,6	171,7
Saboya 50 días Heno (Puyo)	Rp - 384	400,6	454,8	66,3	246,6	8,0	151,2
Saboya 65 días Heno (Puyo)	Rp - 357	362,1	487,5	22,3	295,7	1,0	168,5

Saboya 70 días Heno (Puyo)	Rp - 161	484,4	498,1	28,1	326,9	12,3	130,9
Saboya 60 días Heno (Quevedo)	Rp - 971	608,6	623,7	45,3	317,5	17,2	241,1
Tanzania Heno (Puyo)	Rp - 741	437,7	441,9	71,2	207,2	11,6	151,8
Yuca Ratón 60 días Heno	Rp - 383	583,7	575,5	192,0	158,8	19,5	205,2
Yuca ratón 70 días Heno	Rp - 485	506,5	562,7	192,6	103,7	30,4	235,9
Yuca ratón 80 días Heno	Rp - 528	731,8	684,2	245,0	95,6	27,5	316,0

Laboratorio de Nutrición animal y Bromatología FCP

Con los datos de las tablas de nutrientes digeribles parciales de la materia seca, materia orgánica, Proteína Cruda, Fibra Cruda, Extracto Etéreo y Extracto Libre de Nitrógeno y utilizando la ecuación de (**Van Es, A., 1977**) como ya se mencionó anteriormente en el acápite relación de la digestibilidad y energía útil de los alimentos, podemos estimar la energía metabolizable (E.M.) en kcal/kg de la materia seca, con una pequeña variante al no utilizar dentro de la fórmula el contenido de azúcares, quedando la ecuación de la siguiente manera

Ecuación para Bovinos

$$E.M. = (3.8*PCD) + (9.0*EED) + (3.3*FCD) + (3.5*ELND)$$

Donde:

E.M. = Energía Metabolizable en kcal/kg MS

PCD = Proteína cruda digestible en kg de la MS

EED = Extracto etéreo digestible en kg de la MS

FCD = Fibra cruda digestible en kg de la MS

ELND = Extracto libre Nitrógeno digestible en kg de la MS

Ecuación para Ovinos

$$E.M. = (4.1*PCD) + (9.0*EED) + (3.3*FCD) + (3.5*ELND)$$

Donde:

E.M. = Energía Metabolizable en kcal/kg MS

PCD = Proteína cruda digestible en kg de la MS

EED = Extracto etéreo digestible en kg de la MS

FCD = Fibra cruda digestible en kg de la MS

ELND = Extracto libre Nitrógeno digestible en kg de la MS

Utilizando para el ejemplo el Rye Grass Heno de 42 días de edad y con código Rp -177 con los siguientes datos:

Proteína Cruda Digestible (P.C.D.) =	137.1 g/kg M.S.
Extracto Etéreo Digestible (E.E.D.) =	27.1 g/kg M.S
Fibra Cruda Digestible (F.C.D.) =	171.2 g/kg M.S
Extracto Libre de Nitrógeno Digestible =	276.4 g/kg M.S

La ecuación para bovinos quedaría:

$$E.M. \text{ kcal/kg MS} = (3.8*137.1) + (9.0*27.1) + (3.3*171.2) + (3.5*276.4)$$

$$E.M. \text{ kcal/kg MS} = \mathbf{2297 \text{ kcal/kg MS Bovinos}}$$

La ecuación para ovinos:

$$\text{E.M. kcal/kg MS} = (4.1 \times 137.1) + (9.0 \times 27.1) + (3.3 \times 171.2) + (3.5 \times 276.4)$$

$$\text{E.M. kcal/kg MS} = 2338 \text{ kcal/kg MS ovinos}$$

4.7 Pruebas de Digestibilidad In Vivo con marcadores

(Givens, D., et al., 2000) En algunas circunstancias, particularmente con animales que están en pastoreo, puede que no sea posible medir con precisión la ingesta de alimento o la producción de heces, o ambas, (Tobal, C., 2012) o existe ocasiones en que, por falta de material apropiado, personal o por la naturaleza del ensayo, es imposible realizar estas mediciones, o como indica (McDonald, P., et. al., 1995) que, en determinadas circunstancias, la carencia del equipo adecuado o las características especiales del experimento, hacen imposible coger a cabalidad los datos correctos. (Maynard, L., et. al., 1988) Para estimar la ingesta en praderas se ha usado por muchos años un método indirecto para valorar la digestibilidad cuya precisión y utilidad ha sido establecida en forma definitiva e implica el empleo de indicadores. (Ribeiro, J., & Moreira, O., 2001) Una ligera variación del método *In vivo* es el uso de marcadores para medir los parámetros de digestibilidad y, de particular importancia, ha sido el uso de marcadores monitoreados en las heces, un enfoque utilizado durante más de 120 años. (Carmona, E., et. al. 2012) Este método se constituye en una alternativa para determinar los coeficientes de digestibilidad de los nutrientes de los alimentos sin la obligación de recolectar la totalidad de las heces, y se basa en la adición de sustancias indicadoras en las dietas experimentales. (García, D., et. al., 2009) Los indicadores empleados deben cumplir ciertas condiciones para su empleo en los ensayos. (Bondi, A., 1988). Se han propuesto los siguientes criterios para el indicador ideal: (1) debe ser totalmente indigestible e inabsorbible, (2) la determinación debe ser sencilla y exacta. (3) debe atravesar el tracto digestivo a un ritmo uniforme, semejante al de la ración en estudio, (4) la presencia de los marcadores añadidos a los alimentos no debe afectar de ningún modo a la digestión. Además (Givens, D., et al., 2000), indican que estos marcadores también deben permanecer inalterados durante su paso a través del intestino, y deben recuperarse completamente en las heces. En el criterio de (Rodríguez, N., et al., 2007), un indicador debe de ser inerte y no tóxico, no tener efectos fisiológicos y debe ser recuperado completamente tanto de materias primas como de alimentos procesados, no tener influencia sobre las secreciones alimentarias, o sobre la excreción, no tener efecto sobre la microflora del tracto digestivo del hospedero; además debe tener cualidades que permitan su medición precisa y ser

barato. **(Lachmann, M., & Araujo, O., 2001)** Como el indicador ideal no existe, se considera que cumpla sólo con la indigestibilidad, la recuperación completa y la fácil medición del material, además de no afectar al animal y no interferir la digestibilidad del alimento. El uso de marcadores ofrece una serie de ventajas en relación con el método de colección total de heces, es menos laborioso y no requiere de la medición del consumo del alimento a evaluar y su excreción fecal, ya que las determinaciones pueden ser realizadas directamente sobre muestras del alimento y de las heces

4.7.1 TIPOS DE MARCADORES

(Rodríguez, N., et. al., 2007) Los indicadores son compuestos de referencia usados para monitorear aspectos químicos y físicos de la digestión, estimar el flujo de la digesta, digestibilidad parcial o total y la producción fecal en diversas especies animales. **(Lachmann, M., & Araujo, O., 2001)** Dentro de los indicadores químicos están la hidrólisis y síntesis, los aspectos físicos, como la tasa de pasaje. Haciendo estimaciones cuantitativas o cualitativas de la fisiología nutricional. Estos materiales también han sido denominados indicadores, trazadores, sustancias de referencia o sustancias indicadoras, y se ha denotado de manera especial, como marcadores de las dietas. Ningún marcador es ideal y sus coeficientes de digestión estimados pueden ser ajustados introduciendo factores de corrección para la digestibilidad del marcador determinada por colección total **(Cáceres, O., & González, E., 2015)** Una gran variedad de marcadores se ha utilizado para estimar la digestibilidad de forma indirecta **(Tobal, C., 2012)** Los marcadores se emplean no solamente para calcular los coeficientes de digestibilidad sino para valorar la digestión fraccional en diversos segmentos del tracto alimentario y también para medir el tiempo de retención de la digesta. **(Owens, F., & Hanson, Ch., 1992)** Existen dos tipos de marcadores: Los indicadores internos o naturales que son materias no digestibles que presentan naturalmente en los alimentos y los indicadores externos que son materias que bien se añaden a la dieta o se administran oral o intra ruminalmente a los animales.

Marcadores Internos

(Tobal, C., 2012) señala que hay una serie de marcadores internos en los que podemos señalar como la lignina, sílice y las cenizas insolubles en ácido (C.I.A o A.I.A., por sus siglas en inglés, que es principalmente de sílice). **(Apráez, E., 2020)** Además los constituyentes de los forrajes que se han utilizado incluyen fibra detergente ácido, fibra detergente ácido indigerible (FDAI), cromógenos y algunos de origen natural como los n-alcanos de gran longitud de la cadena (C-25-C-35). **(Galyan, M., et. al., 1986)** clasificó

este tipo de marcadores en nuevos y viejos según el análisis químico a realizar. Los primeros incluyen el uso de lignina, cromógeno o silica, pero estos marcadores han presentado problemas de recuperación. Dentro de estos el más comúnmente usado ha sido lignina. Los Calificados como nuevos incluyen determinaciones como fibra detergente ácida indigestible (FDAI), fibra detergente neutra indigestible (FDNI) ceniza insolubles en ácido (C.I.A)

Lignina: Esta sustancia ha sido considerada como indigestible y en consecuencia utilizada como marcador en estudios de digestión, sin embargo, existe problemas importantes en su determinación y recuperación total de esta sustancia en las heces. **(Tobal, C., 2012)**. Es ampliamente utilizada como indicador y es considerada como un buen indicador por muchos autores. No obstante, hay evidencias de que la lignina no es completamente indigestible. **(Apráez, E., 2020)**. Su estructura es degradada o modificada durante su paso a través del tracto gastrointestinal consecuentemente las cantidades recuperadas en las heces son bajas. **(Fahey, G & Jung, H., 1983)**.

Cenizas insolubles en ácido. Buenas recuperaciones de CIA y una buena relación entre los resultados In vivo de la materia orgánica (DMO) y la digestibilidad predicha, avalan su uso. Sin embargo, se ha observado que este método arroja resultados inferiores a los métodos de fibra ácido detergente de la predicción de la DMS. **(Cáceres, O., & González, E., 2015)**. El silicio está presente como sílice sólida y ácido mono silícico, y la relación entre estos dos compuestos varía con la especie y madurez de las plantas. La sílice fue utilizada por primera vez como marcador interno en 1874 **(Apráez, E., 2020)**, pero actualmente no se utiliza ampliamente como marcador debido a su posible absorción del intestino y el riesgo de contaminación del alimento con tierra, especialmente con animales de pastoreo. El contenido de cenizas insolubles en ácido en los alimentos y las heces, se determinan gravimétricamente después del secado, incineración y ebullición de la ceniza en ácido clorhídrico (HCl), luego un filtrado y lavado del hidrolizado caliente y una nueva incineración **(Sales, J., & Janssens G., 2003a)**

Cromógenos. Cromógeno es un pigmento vegetal soluble en acetona acuosa al 85% y contiene principalmente productos de degradación de las clorofilas. Su recuperación en las heces es alta y existe una buena relación entre la estimación de la digestibilidad utilizando cromógeno y el observado a partir de una colección completa de las heces **(Apráez, E., 2020)**. Se considera un pigmento vegetal no digerible, o grupo de pigmentos, que se extrae con 85 por ciento de acetona la recuperación de estos pigmentos vegetales en las heces estuvo muy cerca del 100 por ciento con todos los materiales

estudiados. Otros trabajadores también han reportado resultados satisfactorios con: la técnica de la proporción de pigmentos vegetales (**McCullough, M., et. al.,1951**). Es significativo altas recuperaciones de pigmentos de vegetales en las heces de ovinos cuando se utiliza heno de alfalfa. (**Cook, C., & Ricis, L., 1951**).

Marcadores Externos

(**Tobal, C., 2012**), como marcadores nombra a alimentos teñidos, sesquióxido de cromo (Cr_2O_3), conocido como Oxido de Cromo el más utilizado, elementos de tierras raras, fibra tratada al cromo mordante, marcadores hidrosolubles, alcanos, que otros investigadores utilizan como ácidos como etilendiaminotetraacético y Cr (CrEDTA) y Co (CoEDTA) por tener una buena solubilidad un análisis simple y muy exactos. (**Kotb, A., & Luckey, T., 1972**) Sin embargo, óxido de titanio (TiO_2), también se ha utilizado como marcador fecal y el sulfato de bario puede ser un posible sustituto del Cr_2O_3 . Debido a sus altas tasas de recuperación fecal, en los últimos años las sales de tierras raras se han utilizado, especialmente iterbio (Yb), como marcadores para la estimación de la producción fecal. (**Mieres, J., 2019**) Los primeros métodos empleados fueron para la determinación del tiempo de retención de la digesta. Algunos De los marcadores externos que se usan son en base a tierras raras como Cerium (Ce), Lanthanum (La), Samarium (Sm), Yterbium (Yb),y Dysprosium (Oy) , etc., el problema con este tipo de marcadores es la propiedad de adsorción que ellos poseen. Otro tipo de marcadores que han sido ampliamente utilizados son a base de oxido férrico, sulfito de plata, preparaciones a base de cobalto, cromo etc., fibra cromo mordiente, polietilenglicol, entre otros

Poliamida granulada. Este marcador se administra a través de cápsulas de gel cada 12 h, y se ha observado que en 4 días se obtiene un estado estable y su recuperación está cercana al 98% y no es afectado por el tipo de dieta o el nivel de consumo de alimento, (**Apráez, E., 2020**). El uso de este marcador requiere un programa de toma de muestras a lo largo del día, pero la ventaja es que es barato y no requiere técnicas analíticas sofisticadas (**Kotb, A., & Luckey, D., 1972**)

Óxido de cromo: El óxido de cromo en polvo es uno de los muchos compuestos con cromo con características de indicador inerte destacado como el más antiguo y comúnmente empleado de los marcadores externos. Al ser este marcador insoluble en agua y no estar asociado a los componentes de la ingesta, ofrece la ventaja de tener la recuperación completa en las heces, de bajo costo comercial, su incorporación fácilmente a las dietas y es analizada con relativa facilidad (**Lachmann, M., & Araujo, O., 2001**). El más viejo de los marcadores y más comúnmente difundido ha sido el sesquióxido de

cromo en polvo. Este marcador es insoluble en agua y no se asocia ni con la fase sólida ni líquida de los componentes de la digesta. Uno de los problemas que presenta este marcador es la variación que posee en su excreción en heces, lo que se puede subsanar en parte con muestreos estratégicos y seguidos en el tiempo (Mieres, J., 2019). El óxido crómico (sesquióxido de cromo, Cr_2O_3) es uno de varios compuestos de cromo con características de marcador y se ha utilizado ampliamente tanto en forma radiactiva como no radiactiva en estudios de utilización de piensos. La determinación cuantitativa del contenido de óxido crómico en muestras requiere la oxidación del óxido crómico trivalente insoluble en agua a su forma hexavalente soluble en agua (Sales, J., & Janssens G., 2003b)

La Fibra Cromo Mordente: El mordenteo con cromo ha sido ampliamente empleado. Este procedimiento fue desarrollado para atrapar el Cr en la fibra vegetal a través de la formación de enlaces coordinados, permaneciendo a lo largo del proceso digestivo en rumiantes 1980 (De Silva, S., 1989), por lo que tiene un alto valor como marcador tanto para estudios de digestibilidad como para determinación del avance de la ingesta (Merchen, N., 1993)

El sulfato de bario (BaSO_4), es un polvo blanco, denso e inodoro, tiene la ventaja de que no tiene propiedades electrostáticas como el óxido crómico y se mezcla muy fácilmente con la alimentación para una distribución uniforme. Puede medirse mediante métodos gravimétricos o fotometría de llama de emisión (Vohra, P., 1972).

Dióxido de titanio (TiO), es un pigmento blanco insoluble en agua, ácido clorhídrico, ácido nítrico, o ácido sulfúrico diluido, representa un marcador para los estudios de digestión. A pesar de que los ingredientes del alimento pueden contener titanio, la concentración podría resultar ser demasiado bajo para la medición como marcador interno. La mayoría de los análisis de concentración de titanio se basan en la digestión de la muestra en ácido sulfúrico y la adición de peróxido de hidrógeno para producir un color naranja/amarillo intenso que se lee colorimétricamente a 408 o 410 nm (Sales, J., & Janssens G., 2003b)

Polietileno, es un marcador que es determinado gravimétricamente después de digestión en ácido nítrico concentrado, tratamiento con cloroformo y acetona y una posterior incineración han producido resultados prometedores (Roudybush, T., et al., 1974)

Desventajas del método de digestibilidad *In vivo*

(Bondi, A., 1988) Aunque las pruebas *In vivo* con animales son más fiables, su ejecución está llena de dificultades. (Martínez, S., 2005) Aunque existen diversos métodos para

medir este indicador (digestibilidad), los métodos clásicos son largos y engorrosos que involucran la recolección de heces. **(Lachmann, M., & Araujo, O., 2001); (García, D., et. al., 2009)** Las desventajas de este método, desde el punto de vista práctico son: el ser laborioso, requerir de jaulas de colección, de personal preparado, costo de mantenimiento animal y la imposibilidad de utilizar hembras en los ensayos. Operacionalmente, implica medir diariamente el consumo, realizar la colección fecal 1 o 2 veces al día a una misma hora sin contaminarlas y mantener los arneses en su sitio. **(Martínez, S., 2005)** Las pruebas In vivo son muy caras y poco prácticas para seleccionar o elegir entre diversos alimentos para la alimentación de los animales. **(Madsen, J., et. al., 1997)** los ensayos de digestibilidad con ovinos y bovinos requieren consumir mucho tiempo. **(Bochi, O., et. Al. 1999); (Nouel, G., 2003).** Desgraciadamente, consume tiempo, es tedioso y costoso. **(Dieter, H., 1998)** requiere de grandes cantidades de alimento, animales y tiempo. **(Jaurena, J., et. al., 2023)** requiere de elevado número de animales, insume mucho tiempo (más que el adecuado para una evaluación comercial), exige recursos humanos calificados. **(Olanite, J., et. al., 2011)** en el caso de empresas a gran escala que realizan análisis de rutina de muestras de alimentos no proporciona datos con los que se pueden calibrar otros procedimientos. **(De Boever, J., et. al., 1988)** Los experimentos de digestibilidad con animales no son adecuados para la evaluación práctica del alimento. **(García, D., et. al., 2009)** En ensayos a pastoreo, este tipo de manejo se complica, ya que los animales deben estar adaptados al uso de arneses y a la constante manipulación, pudiendo causar un efecto perjudicial sobre los hábitos de pastoreo del animal. **(Lachmann, M., & Araujo, O., 2001)** Además esta técnica posee algunas limitaciones con relación a la precisión de la estimación del coeficiente de digestibilidad, representadas principalmente por las pérdidas de metano por medio del eructo. **(De Boever, J., et. al., 1986)** Ya que los experimentos de la digestibilidad con los animales son caros, requieren mucho tiempo y requieren grandes cantidades de alimento, no son adecuados para la evaluación de alimentos a gran escala.

(Church, D., et. al., 2002) Es importante reconocer que la digestibilidad es variable entre especies; esto es, las diferencias inherentes entre las especies animales en lo que se refiere a su capacidad de utilizar alimentos, e indica de modo claro una ventaja de los rumiantes y el caballo sobre el cerdo, el conejo y la gallina guinea. **(Bondi, A., 1988)** Las diferentes especies animales digieren los mismos nutrientes con distinta eficiencia. Las mayores diferencias se dan entre los animales rumiantes y no rumiantes. Es evidente la conveniencia de determinar coeficientes de digestibilidad independientes para cada

especie animal. **(Aerts, J., et. al., 1977)**. La digestibilidad varía considerablemente, no sólo entre especies de animales sino también dentro de una especie, **(Church, D., et. al., 2002)** el mismo forraje dado al mismo animal no se digiere siempre al mismo grado. Por otro lado, varios factores alteran el grado de digestión entre otros: nivel de consumo de alimento, trastornos digestivos, frecuencia de alimentación, efectos asociativos e interactivos de los alimentos. Además, **(Bochi, O., et. Al. 1999)** se ve afectada por otros numerosos factores, entre los que destacan el tipo de ración, el nivel y pauta de ingestión de los alimentos y el estado fisiológico de los animales. **(Cozzolino, D., 2002)** Los factores también pueden ser: composición química del alimento, estado de madurez al momento de cosecha, procesamiento del alimento y las diversas partes de la planta afectan la digestibilidad de esta. **(Olanite, J., et., al., 2011)** La digestibilidad se ve afectada directamente por una serie de factores e indirectamente por manejo del pastoreo. Normalmente, la digestibilidad de las especies tropicales y subtropicales de las gramíneas es menor que la de las leguminosas y las gramíneas templadas. La edad de la planta es un factor importante que afecta la digestibilidad, aunque su influencia varía según la especie, entre el crecimiento primario y el rebrote, y según la estación. Las altas temperaturas dan como resultado una baja digestibilidad. Esto puede explicar en parte por qué Las especies tropicales y subtropicales son menos digeribles que las especies templadas. Los niveles de fertilizantes también influyen en la digestibilidad a través de su influencia en el crecimiento, tasa y etapa de madurez del material.

4.7.2 EFECTO DE LA COMPOSICIÓN DE LOS ALIMENTOS SOBRE LA DIGESTIBILIDAD

(Bondi, A., 1988) La digestibilidad de los alimentos está estrechamente relacionada con la composición química. Los forrajes frescos y conservados su digestibilidad es más variable. La fibra bruta tiende a rebajar la digestibilidad al proteger los componentes de los alimentos del ataque de las enzimas digestivas o microbianas. **(Maynard, L., et. al., 1988)**, el estado de madurez al momento de la cosecha parece ser el factor de mayor importancia que influye en la composición de los forrajes. Conforme la planta madura, aumenta el contenido de la pared celular, el contenido celular se recluye y la planta se vuelve menos digestible. **(Schneider, B., & Flat, W., 1975)** La digestibilidad de un alimento está afectada, no solo por su composición, sino también por la composición de los demás alimentos ingeridos con él. Los efectos asociativos pueden atribuirse al hecho de que la unión de dos alimentos constituye una ración más (o menos) equilibrada que

una ración compuesta por un único alimento. **(Aerts, J., et. al., 1977)** el efecto asociativo es un fenómeno común observado en los datos sobre la digestibilidad es que las mezclas de alimentos no siempre dan resultados que se predecirían tomando como base los valores de la digestibilidad de los componentes individuales de la mezcla. Esta respuesta se conoce como efecto asociativo o no aditivo. La mezcla es más digerible que cuando la dieta básica se administra sola. **(Schneider, B., & Flat, W., 1975)**. De todos los factores relacionados con el tipo de ración administrada a los animales, el efecto de la relación forraje concentrado ha sido uno de los más estudiados como un efecto asociativo.

Nivel de alimentación

(Maynard, L., et. al., 1988) Cuando se reduce la ingestión de alimento por debajo del nivel de mantenimiento, los animales tienden a ser más eficientes en la digestión de alimentos y en el aprovechamiento de nutrientes. Los cambios pueden tener mayores efectos metabólicos que sobre la capacidad digestiva por si sola. Durante el periodo de crecimiento rápido los no rumiantes pueden consumir tres veces el nivel de mantenimiento, pero esta ingestión elevada de alimento solo ejerce un pequeño efecto depresor sobre la digestibilidad de ración. Cuando los rumiantes son alimentados solo a base de forrajes, el nivel de ingesta tiene poca influencia sobre la digestibilidad, pero la influencia se hace mayor conforme se aumenta la proporción de concentrados en la ración total. **(Bondi, A., 1988)** Los planos de alimentación altos, dan lugar a una reducción en la digestibilidad. El aumento en la cantidad consumida de una ración por los animales determina un ritmo de paso más rápido por el tracto digestivo, lo que proporciona menos tiempo para la digestión y absorción

Preparación de los alimentos

(Maynard, L., et. al., 1988) Moler los granos por lo general no aumenta la digestibilidad en aquellos animales que mastican por completo su alimento, pero las semillas que escapan a la masticación pueden permanecer sin digerirse en su paso a través del tracto digestivo. Los ovinos mastican su alimento en forma tan efectiva, que moler los granos para ellas no representa ningún beneficio, excepto en el caso de semillas muy pequeñas y duras. Los bovinos mastican menos a fondo los granos y por lo tanto son mejores digeridos cuando se encuentran molidos. **(Bondi, A., 1988)** La molienda fina del heno reduce la digestibilidad, ya que el heno molido pasa con demasiada rapidez por el tracto digestivo. La granulación de los henos (molienda, presión y extrusión de los alimentos), puede incluso reducir la digestibilidad de la fibra debido, asimismo al mayor ritmo de paso. Los productos de muy bajo valor alimenticio como las pajas de cereales, paja de

algodón, cascarilla de semillas, etc., pueden convertirse en alimentos adecuados para los rumiantes mediante el tratamiento con hidróxido sódico u otros productos químicos. La lignina se elimina mediante este tratamiento; la estructura de la pared celular se destruye, de ese modo, la digestibilidad de los demás componentes mejora considerablemente.

Pruebas de Digestibilidad *In vitro*

(Forejtová, J., et. al., 2005) Existen muchos métodos de laboratorio para predecir digestibilidad de la materia orgánica, el método in vivo es el mejor método para la estimación de la digestibilidad de la materia orgánica, pero es caro, mano de obra y tiempo consumido. Por lo tanto, se requieren métodos de predicción más simples para uso práctico. **(Gaggioti, M., 2008)** como la determinación “in vivo” consume grandes cantidades de alimentos, se han propuestos varios métodos de laboratorio (biológicos y químicos) para su estimación. **(Aerts, J., et. al., 1977)** Como los experimentos de digestibilidad con animales son laboriosos, una técnica sencilla para estimar la digestibilidad de forma rápida y exactamente es una necesidad absoluta. **(Martínez, S., 2005)** En los últimos tiempos se retoman y amplían con vigor técnicas de evaluación de alimentos que no involucren daños a la integridad física de los animales y que, de forma relativamente rápida y barata, además brinden resultados confiables. **(Jaurena, J., et. al., 2023)** Por eso, se han desarrollado técnicas de laboratorio que en forma práctica permiten generar indicadores de calidad asociados con la digestibilidad in vivo (i.e. digestibilidad de la materia seca in vitro aparente o verdadera, digestibilidad enzimática, producción de gas, digestibilidad in sacco). **(Madsen, J., et. al., 1997)** Los métodos generales más utilizados son los biológicos, como el método in vitro, o el método de la bolsa de nailon y los métodos enzimáticos. **(Pace, V., et. al., 1984)** debido a su concordancia con la digestibilidad In vivo y que se ha vuelto muy popular para estimar Digestibilidad in vitro esta la técnica de 2 etapas de Tilley y Terry (1963) basada en el uso de licor ruminal y pepsina. **(Forejtová, J., et. al., 2005)** debido además al error más pequeño de predicción de la digestibilidad. Por otro lado, se sugiere que el método de la celulasa, para uso rutinario, podría reemplazar al método in vitro. **(Martínez, S., 2005)** se recurre a métodos indirectos, tanto in situ como in vitro para obtener información sobre la digestibilidad. Tres de estos métodos pueden ser el de degradabilidad ruminal, el de producción de gas in vitro y el de digestibilidad intestinal in vitro. Hasta hoy, la técnica de la bolsa en rumen o in sacco es posiblemente el método más utilizado, a pesar de habersele señalado algunos inconvenientes. Otros procedimientos son utilizados también la técnica de digestibilidad in vitro **(Tilley, J., & Terry, R., 1963)**, el método enzimático,

la técnica de simulación del rumen, (RUSITEC) (Czerkawski, J., & Brekenridge, G., 1977), así como la técnica de producción de gas in vitro (Menke, K., & Steingass, H., 1988). (Adesogan, A., et. al. 1995) Por otra parte la aversión pública a la experimentación con animales in vivo demanda el remplazo de los métodos típicamente costosos, laboriosos y extensos de evaluación de forraje con técnicas de sustitución no invasivas basadas en laboratorio, entre otras tenemos la degradabilidad in situ (Orskov, E., & McDonald, I., 1979) y producción de gas (Theodorou, M., et al., 1994) para predecir la digestibilidad in vivo.

4.7.3 DIGESTIBILIDAD "IN VITRO" FLUIDO RUMINAL

(Juan, N., et. al. 1995) Digestibilidad In vitro o en tubos de ensayo: es un procedimiento que consta de dos etapas. En la primera, la muestra de forraje es digerida usando líquido ruminal de un animal donante, para simular la digestión en el rumen. En la segunda etapa la muestra es digerida con una solución enzimática para simular la digestión en el intestino delgado. La diferencia entre el peso seco inicial de la muestra y el peso del residuo da la digestibilidad del forraje. (Colombatto, D., 2003) El método de fluido ruminal y pepsina de Tilley y Terry (1963) sigue siendo muy popular en nuestros días, debido principalmente a su precisión para predecir la digestibilidad *in vivo* de algunos forrajes. (Cozzolino, D., 2002) En general, los laboratorios de análisis de rutina de alimentos utilizan el método de digestibilidad "in vitro". Esta técnica se basa en la colocación de una muestra de alimento en un tubo de ensayo con líquido ruminal, midiendo la desaparición de la materia seca o materia orgánica del alimento. Existen otras técnicas en las que se hace uso de enzimas que simulan la digestión en el rumen. (Adesogan, A., 2005) Los cultivos discontinuos in vitro ampliamente utilizados producen estimaciones relativamente precisas de la digestibilidad de los alimentos en diversos momentos de incubación. Tales medidas son importantes para estimar la calidad de los alimentos y su eficiencia de utilización en los animales. (Gallardo, M., 2006). Digestibilidad in vitro de la materia seca (%DIVMS). Indica indirectamente cuánto alimento quedará retenido en el tracto gastrointestinal para ser digerido (en rumen e intestinos)

Determinación de la digestibilidad "In vitro Fluido Ruminal"

Principio

(Tilley, J., & Terry, R., 1963) Este procedimiento involucra primeramente un período de incubación de 48 horas con microorganismos del rumen en un medio buffer y en

segundo término la digestión con una mezcla de ácido clorhídrico- pepsina. Las cantidades de materia seca o materia orgánica que desaparecen después de ambas etapas se consideran como "digeridas".

Equipos

1. 2 animales fistulados (bovino u ovinos)
2. Balanza analítica, capacidad 100 gr. y precisión 0.1 mg.
3. Equipo de vacío constituida por: Bomba de vacío o trompa de vacío accionada por agua corriente para filtrar por succión. Kitasato de 500 mg con empaque de caucho en la boca para fijar los crisoles de filtración.
4. Incubadora o estufa de incubación con control de temperatura a 39° C.
5. Medidor de pH con un electrodo de combinación (potenciómetro).
6. Centrifuga a 4000 r.p.m.
7. Estufa para secado a 105° C.
8. Baño de María
9. Mufla a 550° C.
10. Tanque con CO₂ y válvula de reducción, presión y tubería para distribuir el gas
11. Desecador con silica gel como desecante

Materiales

1. Tubos "Nalgene" de 100 ml de capacidad
2. Tapones de caucho para los tubos "Nalgene", que tengan válvulas Bunsen para la liberación del gas
3. Gradillas para los tubos "Nalgene"
4. Crisoles de gooch de 50 ml de capacidad
5. Frasco de vidrio de 5 litros de capacidad con cuello corto grueso
6. Termómetros de 10 a 150 grados centígrados de temperatura.
7. Malla de tela para filtrar de poliamida
8. Gasa
9. Mixer Vortex de control de velocidad.
10. Pipetas automáticas de 5 y 10 ml. de capacidad de graduación variable.
11. Equipo de provisión de agua caliente.
12. Policías
13. Pisceta

14. Espátula
15. Pinza universal para crisoles
16. 2 termos para recolección del licor ruminal

Reactivos

1. Saliva artificial de McDougall. Llamada también Solución Buffer o amortiguadora: para preparar 1 litro de solución se requiere de los siguientes reactivos:
 - a. $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ 46.50 g
 - b. NaHCO_3 49.00 g
 - c. NaCl 2.35 g
 - d. KCl 2.85 g
 - e. MgCl_2 6.00 g o a su vez usar
 MgCl_2 12.81 g
 - f. CaCl_2 4.00 g o a su vez usar
 - g. $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 4.00 g
 - h. $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 8.00 g
2. Para la digestión enzimática utilizar los siguientes reactivos
 - a. HCl 1 N
 - b. Pepsina Fluka # 77160 5 g
 - c. Na_2CO_3 10%
3. Lana de vidrio grado p.a.
4. Líquido ruminal filtrado

Procedimiento

Digestión In Vitro microbiana. 1ra etapa. Esta fase empieza el viernes en la tarde

1. Pesar alrededor de 0.5000 gr. que muestra en los tubos “Nalgene”
2. Incluir los tubos con muestras estándares.
3. Poner los tubos con las muestras para blancos en la estufa de incubación a 39 °C hasta el lunes en la mañana.
4. El lunes en la mañana. Agregar dos ml de agua destilada a cada tubo para que se humedezca toda la muestra.
5. Preparar la saliva artificial, y colocar en el baño María a 39°C.
6. Hacer burbujear con CO_2 en la solución de saliva artificial durante unos 10 minutos

7. Extraer el licor ruminal de los 2 animales fistulados en los termos que estuvieron con agua destilada hirviendo para evitar el shock térmico de los microorganismos de rumen
8. Filtrar el jugo del rumen a través de una capa de lana de vidrio o con la tela para filtrar de poliamida
9. Agregar un volumen de jugo de rumen filtrado a 4 volúmenes de saliva artificial. (625 de licor ruminal filtrado + 2500 de saliva artificial)
10. Hacer burbujear CO₂ dentro de la mezcla, en el baño María durante 10 minutos.
11. Poner 50 ml. De la mezcla en todos los tubos incluyendo los blancos y los estándares.
12. Después de agregar el medio de cultivo (mezcla) eliminar el aire remanente haciendo pasar CO₂ sobre cada tubo.
13. Tapar inmediatamente los tubos con los tapones de caucho con las válvulas de Bunsen.
14. Agitar los tubos en el mixer Vortex hasta que haya una suspensión uniforme.
15. Poner los tubos en la incubadora a 39°C y mantener la digestión durante 48 horas.
16. Agitar los tubos durante 30 segundos con los tubos con el mixer Vortex el lunes 12 am y 16 pm y el martes 8 am, 12 am y 16 pm.

Digestión in Vitro enzimática. Segunda etapa. Esta fase empieza el miércoles

17. Prepare la solución de Pepsina HCl. Pesar 5 g de Pepsina Fluka # 77160 de 766 U/mg y lleve a un volumen de 2250 ml con agua destilada y mezcle con 250 ml de HCl 1 N, dando un volumen total de 2500 ml.
18. A las 48 horas de la digestión microbiana (miércoles), saque los tubos de la incubadora agitando una vez más y remueva los tapones de caucho y lave toda partícula de muestra, adherida a los tapones con un mínimo de agua destilada caliente, ayudados de una Pisceta
19. Añadir 5 ml de la solución de Na₂CO₃ al 10% a cada tubo, ayudados de una pipeta
20. Colocamos cada tubo con la solución de Na₂CO₃ en un tubo de centrifuga y procedemos a centrifugar a 4.000 r.p.m. por 5 minutos
21. Procedemos a filtrar la muestra digerida con la solución ya centrifugada para separar el sobrenadante del precipitado
22. Calentamos la solución de pepsina-HCl a 39°C en el baño de María

23. El precipitado que quedo en el tubo de la centrifuga trasvasamos al tubo “Nalgene” con la solución de pepsina-HCl que está en la Pisceta y lavamos el remanente que quedo en la tela
24. Aforamos el tubo “Nalgene” con la muestra digerida, centrifugada filtrada y lavada a un aforo de 50 ml.
25. Colocamos nuevamente los tapones de caucho con las válvulas de Bunsen en cada tubo
26. Agitamos los tubos en el mixer Vortex hasta que haya una suspensión uniforme.
27. Ponemos los tubos en la incubadora a 39°C y mantenemos la digestión durante 48 horas.
28. Agitamos los tubos durante 30 segundos en el mixer Vortex el miércoles 12 am y 16 pm y el jueves 8 am, 12 am y 16 pm.

Filtración y determinación de materia seca y orgánica. Esta fase empieza el viernes de la semana siguiente

29. El viernes sacamos los tubos de la incubadora y filtramos en un crisol de gooch que contiene lana de vidrio, previamente tarados y pesados
30. Ayudados de una piscesta que contiene agua caliente lavamos el filtrado, con una cantidad aproximada de 500 ml
31. Colocamos los crisoles de gooch con la muestra digerida en la estufa a 105 °C hasta el lunes de la semana siguiente
32. El lunes sacamos de la estufa y colocamos en el desecador por media hora para su enfriamiento
33. Procedemos a pesar y registrar el peso en la balanza analítica de la muestra seca digerida
34. Colocamos los crisoles de gooch con la muestra digerida, seca y pesada en la mufla a 550 -600 °C, por un tiempo de 4 horas
35. Sacamos de la mufla y colocamos en el desecador por media hora para su enfriamiento
36. Procedemos a pesar y registrar el peso en la balanza analítica de las cenizas
37. Realizamos la determinación de la materia seca y materia orgánica de la muestra original para los cálculos respectivos
38. Con todos los datos calculamos el coeficiente de digestibilidad In vitro de la materia seca y materia orgánica en base seca

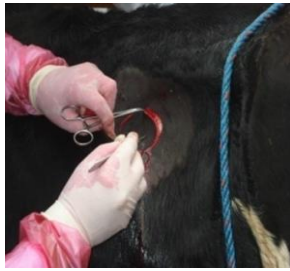


Fig. 158. *Fistulación de animales*



Fig. 159. *Animal 1 fistulado Melle*



Fig. 160. *Animal 2 fistulado ESPOCH*



Fig. 161. *Pesaje de muestras*



Fig. 162. *Colocación tubos Nalgene*



Fig. 163. *Extracción Licor Ruminal*



Fig. 164. *Consecución licor ruminal termos*



Fig. 165. *Filtración del licor ruminal*

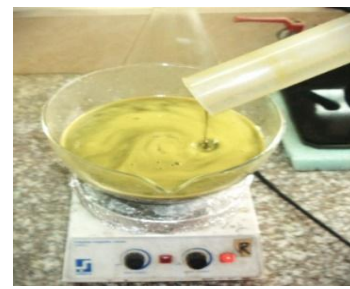


Fig. 166. *Adición al licor con saliva artificial*



Fig. 167. *Bombardeo del preparado con CO₂*



Fig. 168. *Colocación de 50 ml a cada tubo*



Fig. 169. *Bombardeo con CO₂ a cada tubo*



Fig. 170. *Colocación Tapón hule cada tubo*



Fig. 171. *Colocación muestras en incubadora*



Fig. 172. *En incubación por 48 horas*



Fig. 173. Filtración digerido microbiano



Fig. 174. Muestras para digestión enzimática



Fig. 175. Incubación enzimática por 48 horas



Fig. 176. Filtración digerido enzimático



Fig. 178. Colocación estufa por 12 horas



Fig. 179. Pesaje muestras digeridas y secas



Fig. 180. Colocación mufla por 4 horas



Fig. 181. Enfriamiento de las cenizas



Fig. 182. Pesaje de las cenizas

(Colombatto, D., 2003) El sistema ANKOM, una alternativa de la digestibilidad In Vitro ha sido recientemente introducido en el mercado para simplificar la estimación de digestibilidad. Brevemente, el método consiste en digerir muestras de alimentos dentro de frascos, los cuales rotan permanentemente dentro de una cámara aislada y mantenida a 39°C. Algunos autores han reportado que la técnica entrega predicciones relativamente precisas de digestibilidad aparente y verdadera. (Adesogan, A., 2005) En comparación con los métodos convencionales, el nuevo método ANKOM simplifica la medición de la digestibilidad in vitro, eliminando el requisito de filtrar muestras después de la digestión, que a menudo es uno de los pasos más laboriosos del procedimiento convencional. La incubación de varias muestras dentro de un frasco en la incubadora ANKOM (DAISY II), también reduce la necesidad de inoculación de muestras en tubos.

A continuación, reportamos unas ecuaciones de predicción realizadas por (De Boever, J., et. al., 1999), para predecir la digestibilidad in vivo, Energía Metabolizable en Mj/kg de la materia seca, Energía Neta de la lactancia, en unidades (VEM_{MS}), Energía Neta para engorde en unidades (VEVI_{MS}) de diferentes tipos de alimentos a partir de la digestibilidad In vitro Fluido Ruminal de la materia orgánica (DIV-FR_{MO}) y parámetros químicos

4.8 EQUIVALENCIAS DE UNIDADES PARA PREDICCIÓN DE DIGESTIBILIDAD

Tabla 41. Unidades y equivalencias de los diferentes sistemas de valoración energética utilizados en diferentes países.

Unidad	Equivalencia	Unidad	Equivalencia
1 Mcal	1000 Kcal.	1 Kcal	0.606 VEM
1 Kcal	1000 cal	1 Kjoul	0.145 VEM
1 Kcal	4,184 kjoul	1 VEM	6.904 KJOUL
1 Kjoul	0,239 Kcal	1 VEM	1.650 Kcal
1 Mcal	4,184 Mjoul	1 Kcal	0.605 VEVI
1 Mjoul	0,239 MCAL	1 Kjoul	0.145 VEVI
1 Mcal	4184 Kjoul	1 VEVI	1.651 Kcal
1 Mjoul	239 Kcal	1 VEVI	6.909 Kjoul

Mcal = Megacalorías, sistema energético americano para leche y carne (NRC)
Kcal = kilocalorías, sistema energético americano para leche y carne (NRC)
Kjoul o Mjoul = sistema energético inglés para leche y carne (ARC)
VEM = Sistema energético de unidades de los Países Bajos para leche
VEVI = Sistema energético de unidades de los Países Bajos para carne

Tabla 42. Ecuaciones de predicción

$Y = a + b_1X_1 + b_2X_2 + \dots + b_nX_n$	R ² %	RSD Mj	RSD %
Predicción de la digestibilidad In vivo (%) a partir de DIV-FR _{MO} de Henos de gramíneas.			
-1.92 + 1.051 DIV-FR _{MO}	92		2.1
24.37 + 0.862 DIV-FR _{MO} - 0.046 FC	94		1.7
24.37 + 0.862 DFR _{MO} - 0.046 FC	94		1.7
Predicción de la E.M. (Mj/kg MS) a partir de DIV-FR _{MO} de Henos de gramíneas			

0.25 + 0.1503 DIV-FR _{MO} - 0.0110 Cenizas.	86	0.38	4.0
5.83 + 0.1100 DIV-FR _{MO} - 0.0098 FC - 0.0107 Cenizas.	93	0.27	2.9
-7.86 + 0.1284 DIV-FR _{MO} + 0.0092 MS + 0.0320 EE	94	0.25	2.6
Predicción el VEM en base seca a partir de DIV-FR _{MO} de Henos de gramíneas PDN leche			
-1079 + 14.046 DIV-FR _{MO} + 1.083 MS	91	30	3.8
-936 + 13.033 DIV-FR _{MO} + 0.903 MS + 3.068 EE	94	24	3.1
-107 + 10.936 DIV-FR _{MO} + 1.093 CSA + 3.794 EE	95	24	3.0
Predicción el VEVI en base seca a partir de DIV-FR _{MO} de Henos de gramíneas PDN carne			
-1580 + 18.101 DIV-FR _{MO} + 1.349 CSA	92	37	4.7
-1409 + 16.887 DIV-FR _{MO} + 1.134 MS + 3.676 EE	95	30	3.8
-368 + 14.239 DIV-FR _{MO} + 1.382 CSA + 4.586 EE	95	30	3.8

Fibra Cruda (FC), Cenizas, Extracto Etéreo, (EE) Carbohidratos Solubles en Agua (CSA), Materia Seca (MS) en g/kg MS. (Nota para transformar, multiplique el valor del laboratorio que viene en % por 10)

DIV-FR_{MO} en %.

Tabla 43. Predicción de la Digestibilidad en concentrados

$Y = a + b_1X_1 + b_2X_2 + \dots + b_nX_n$	R ² %	RSD Mj	RSD %
Predicción de la digestibilidad In vivo (%) a partir de DIV-FR _{MO} de concentrados			
35.64 + 0.578 DIV-FR _{MO}	67		3.0
24.01 + 0.710 DIV-FR _{MO} + 0.068 EE - 0.027 FC	86		1.9
24.94 + 0.712 DIV-FR _{MO} + 0.063 EE - 0.016 FND	87		1.8
Predicción de la E.M. (Mj/kg MS) a partir de DIV-FR _{MO} de concentrados			
1.64 + 0.0295 EE + 0.1201 DIV-FR _{MO} - 0.0151 Cenizas. + 0.0030 PC	92	0.28	2.3
4.18 + 0.0280 EE + 0.0956 DIV-FR _{MO} - 0.0147 Cenizas + 0.0024 PC - 0.0041 FC	93	0.26	2.2
Predicción el VEM en base seca a partir de DIV-FR _{MO} de concentrados PDN leche			
-85 + 13.384 DIV-FR _{MO} + 2.958 EE - 1.421 Cenizas + 0.229 PC	90	31	3.0
226 + 2.774 EE + 10.384 DIV-FR _{MO} - 1.382 Cenizas - 0.505 FC + 0.148 PC	92	29	2.8
Predicción el VEVI en base seca a partir de DIV-FR _{MO} de concentrados PDN carne			
-379 + 3.947 EE + 18.167 DIV-FR _{MO} - 1.562 Cenizas	88	44	3.9
89 + 3.500 EE + 13.534 DIV-FR _{MO} - 1.545 Cenizas - 0.789 FC	90	39	3.4

Proteína Cruda (PC), Fibra Cruda (FC), Fibra Neutro Detergente (FND), Cenizas, Extracto Etéreo, (EE) Carbohidratos Solubles en Agua (CSA), Materia Seca (MS) en g/kg MS. (Nota para transformar, multiplique el valor del laboratorio que viene en % por 10)

¹ Usar estas fórmulas cuando FC < 190 g/kg MS, DFR_{MO} ≥ 70%,

4.9 Digestibilidad "In Situ"

(Mehrez, A., & Orskov, B., 1977) La técnica in sacco (también denominada in situ o “de las bolsita; (Dewhurst et al., 1995) fue originalmente desarrollada para evaluar forrajes y se utiliza para determinar la degradabilidad de los alimentos colocando bolsitas de nylon (tamaño de poro ca. 50 micras) con cantidades conocidas de alimento dentro del rumen de animales con fistulas permanentes de rumen. (Getachew, G., et al., 1998). Actualmente constituyen la alternativa de preferencia para comparar alimentos en términos absolutos o relativos debido a su simplicidad, economicidad y objetividad, ya que las incubaciones se pueden realizar en condiciones más repetibles. (Jaurena, J., et. al., 2023) Un aspecto de importancia es que la metodología permite evaluar en forma simultánea y en las mismas condiciones un gran número de muestras. (Michalet, B., & Ould, M., 1992); (Zewdie, A., 2018) Hoy, la técnica de la bolsa en rumen el método más utilizado en todo el mundo, a pesar de que se le han señalado algunos inconvenientes. Tiene como objetivo fundamental en medir la desaparición de materia seca y orgánica, el nitrógeno u otros nutrientes de los alimentos sometidos al efecto del ambiente ruminal. (Olanite, J., et., al., 2011) La técnica implica la suspensión de una muestra seca de forraje encerrado en bolsas hechas de material no digerible dentro del rumen. La bolsa se retira después de un período específico y se determina la pérdida de materia seca de la bolsa. El método intenta simular la digestión in vivo en el laboratorio. (Juan, N., et. al. 1995) La diferencia entre la cantidad de materia seca inicial y el residuo, luego de una determinada cantidad de horas de digestión, da el porcentaje de degradabilidad en rumen. (Ribeiro, J., & Moreira, O., 2001) La técnica *In situ* se utiliza para obtener una estimación de los parámetros de la cinética de degradación con una aplicación de una ecuación exponencial. La misma técnica puede utilizar para el método de cultivo continuo en el que las muestras se pueden incubar durante diferentes tiempos para obtener una cinética o un valor absoluto. (Colombatto, D., 2003) El método ha recibido mucha atención por parte de los nutricionistas debido en parte a su simplicidad de uso, pero principalmente porque representa un adelanto con respecto al método de Tilley y Terry (1963) en la digestibilidad de un alimento. (Zewdie, A., 2018) La técnica proporciona un medio para clasificar los alimentos según la tasa y el grado de degradación de la materia seca, la materia orgánica y el nitrógeno u otros parámetros nutricionales. Consiste en incubar muestras de alimentos en el rumen de animales fistulados durante períodos de 6 a 120 horas y posterior determinación de la desaparición de los diferentes componentes

del pienso. La técnica de la bolsa de nailon utiliza bolsas (6,5 x 14 cm) de malla de nailon (30 - 50 mm). Se cierra herméticamente una muestra de peso conocido en bolsas de nailon o poliamida y se coloca en el rumen de un animal fistulado. Transcurrido el tiempo requerido, la muestra se retira, se lava, se seca y se pesa

4.9.1 DETERMINACIÓN DE LA DIGESTIBILIDAD “*IN SITU*”

Principio

(Mehrez, A., & Orskov, B., 1977) La técnica se fundamenta en el uso de bolsas de poliamida, que contienen cierta cantidad de muestra en su interior, éstas son colocadas en el rumen de los animales fistulados durante 48 horas para una posterior digestión química con pepsina en el laboratorio.

Equipos

1. 2 animales fistulados (bovino u ovinos)
2. Balanza analítica, capacidad 100 gr. y precisión 0.1 mg.
3. Incubadora o estufa de incubación con control de temperatura a 39° C.
4. Estufa para secado a 105° C.
5. Mufla a 550° C.
6. Lavadora temporizada y control de temperatura
7. Selladora de fundas de Poliamida y/o dacrón
8. Desecador con silica gel como desecante

Materiales

1. Fundas de poliamida, dacrón (tela de paracaídas), con 1936 agujeros por cm², el diámetro del hilo de aproximadamente 180 µm y el área de apertura de aproximadamente 2250 µm² y de 150 x 180 mm
2. Crisoles de porcelana de 50 ml de capacidad
3. Frasco de vidrio de 5 litros de capacidad con cuello corto grueso
4. Termómetros de 10 a 150 grados centígrados de temperatura.
5. Equipo de provisión de agua caliente.
6. Hilo de polipropileno
7. Brocha de pelo de camello
8. Varilla de vidrio
9. Cadena gruesa de acero inoxidable
10. Espátula

11. Pinza universal para crisoles

Reactivos

1. Para la digestión enzimática utilizar los siguientes reactivos
 - a. HCl 1 N
 - b. Pepsina Fluka # 77160 5 g
2. Hielo

Procedimiento

Digestión in Vitro microbiana. 1ra etapa. Esta etapa empieza el viernes

1. Pesar las Fundas de poliamida, dacrón (tela de paracaídas), y registrar el peso
2. Pesar alrededor de 2 g para la paja molida secada al aire, o 3 g de heno de buena calidad o hierba seca, o 5 g de concentrado y entre 10-15 g de hierba fresca y registrar el peso
3. Colocar dentro de las fundas de poliamida, dacrón (tela de paracaídas), la muestra pesada
4. Sellar las fundas con el aparato de sellado (sellador de fundas con calor)
5. Colocar las fundas con las muestras ya pesadas y dejar en la estufa a 105° C., hasta el lunes
6. El lunes por la mañana amarre con un hilo de polipropileno cada una de las fundas selladas
7. Colocar las fundas que están atadas con el hilo de polipropileno a una cadena gruesa de acero inoxidable
8. Sacar la tapa de la fistula del animal
9. Ubicar la cadena que contiene a las fundas sostenidas por el hilo en la parte baja del rumen del animal con la finalidad que las muestras tengan una mejor digestión
10. Colocar nuevamente la tapa en la fistula.
11. Registre la hora de ingreso de todo el material al rumen y deje por 48 horas para su digestión microbiana

Digestión in Vitro enzimática. Segunda etapa. Esta fase empieza el miércoles

12. Preparar la solución de Pepsina HCl. Pesar 5 g de Pepsina Fluka # 77160 de 766 U/mg y lleve a un volumen de 2250 ml con agua destilada y mezcle con 250 ml de HCl 1 N, dando un volumen total de 2500 ml.

13. A las 48 horas de la digestión microbiana (miércoles), saque las fundas que se encuentra en el rumen del animal fistulado.
14. Colocar todas las fundas en una cubeta con hielo para detener la acción microbiana hasta llegar al laboratorio
15. En el laboratorio proceda a colocar todas las fundas en una lavadora por un tiempo de 30 minutos a una temperatura de 39 ° C., o al no disponer la lavadora lave a mano con agua caliente hasta obtener una coloración transparente del agua de lavado. Dar un último enjuague con agua destilada caliente.
16. Colocar las fundas con la muestra digerida microbiológicamente en el frasco de vidrio de 5 litros de capacidad que contiene la solución de pepsina HCl
17. Poner el frasco en la incubadora a 39°C y mantenemos la digestión durante 48 horas.
18. Agitar las fundas que están dentro del frasco ayudados de la varilla de vidrio durante 30 segundos el miércoles 12 am y 16 pm y el jueves 8 am, 12 am y 16 pm.

Lavado y determinación de materia seca y orgánica. Esta fase empieza el viernes de la semana siguiente

19. Pasadas las 48 horas sacar las fundas de la incubadora y del frasco para lavar con agua destilada caliente por tres veces consecutivas
20. Ubicar las fundas en la estufa a 105° C para secamiento por 6 horas. NOTA: no existe inconveniente si se deja hasta el lunes de la semana siguiente en la estufa
21. Situar las fundas con las muestras secas y digeridas en el desecador por media hora para su enfriamiento
22. A continuación, proceder a pesar y registrar el peso en la balanza analítica de las fundas con las muestras secas digeridas
23. Rasgar las fundas y las muestras digeridas trasvasar a los crisoles de porcelana de 50 ml de capacidad previamente tarados y pesados, teniendo cuidado de depositar en el crisol todas las partículas de la muestra digerida ayudados de una brocha de pelo de camello.
24. Colocar los crisoles con la muestra digerida, seca y pesada en la mufla a 550 - 600 °C, por un tiempo de 4 horas
25. Sacar de la mufla y colocar en el desecador por media hora para su enfriamiento

26. Pesar y registrar el peso en la balanza analítica los crisoles con las cenizas
27. Realizamos la determinación de la materia seca y materia orgánica de la muestra original para los cálculos respectivos
28. Con todos los datos calculamos el coeficiente de digestibilidad In vitro de la materia seca y materia orgánica en base seca

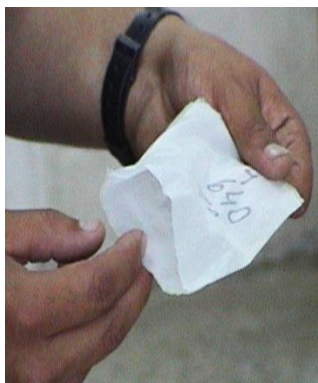


Fig. 183. Funda de Poliamida de 180 µm



Fig. 184. Pesaje de la muestra y enfundar

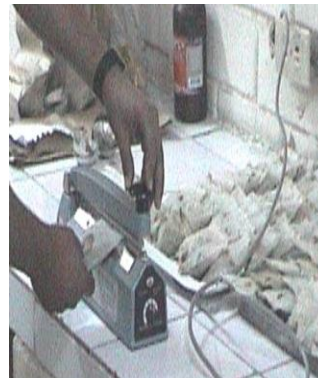


Fig. 185. Sellado de la funda con la muestra



Fig. 186. Recolección de muestras enfundadas



Fig. 187. Amarre de las fundas con hilo



Fig. 188. Colocación de fundas en el rumen



Fig. 189. Colocación fundas en el rumen 48 horas



Fig. 190. Sacar las fundas luego de 48 horas



Fig. 191. Lavada manual muestras digeridas



Fig. 192. Lavada de muestras digeridas en lavadora



Fig. 193. Preparación de Pepsina HCl



Fig. 194. Digestión por pepsina HCl de muestras



Fig. 195. Digestión enzimática 48 horas muestras



Fig. 196. Sacar las fundas luego de 48 horas



Fig. 197. Lavada manual muestras digeridas



Fig. 198. Determinación de Materia seca



Fig. 199. Enfriamiento muestras en desecador



Fig. 200. Pesaje M.S., de muestras



Fig. 201. Trasvase de muestras a frascos



Fig. 202. Pesaje de muestras secas en crisoles



Fig. 203. Precalcinación de muestras



Fig. 204. Incineración en la mufla a 600° C.



Fig. 205. Enfriamiento de crisol con las cenizas



Fig. 206. Pesaje del crisol mas cenizas

4.9.2 TÉCNICA ENZIMÁTICA PARA DETERMINAR LA DIGESTIBILIDAD IN VITRO.

(Pace, V., et. al., 1984) El uso de licor ruminal tiene algunas desventajas, como la necesidad de animales fistulados, el tedioso procedimiento de obtención del inóculo y, sobre todo la variabilidad del propio licor ruminal. (De Boever, J., et. al., 1988) Entre los métodos de laboratorio existentes, los que utilizan el líquido ruminal parecen ser los más precisos para predecir el valor nutritivo de los forrajes. Sin embargo, la baja reproducibilidad entre laboratorios y la necesidad de fistulas para los animales son desventajas con estas técnicas. (Sáenz, S., 2023) Para evitar problemas asociados con la variación y la duración de la actividad del líquido ruminal a lo largo del tiempo, se han desarrollado metodologías enzimáticas que pretenden llegar a eliminar este inóculo microbiano, sobre todo pensando que un inóculo enzimático ofrece una mejor estandarización de la metodología y una reducción a la variación que se pueda atribuir a la fuente y preparación del inóculo, y que además, contribuye a reducir la dependencia de animales modificados quirúrgicamente como donantes de líquido ruminal. (De Boever, J., et. al., 1988) Así, muchos intentos durante los últimos 15 años se han hecho para predecir el valor nutritivo de los forrajes mediante uso de preparaciones enzimáticas, por lo tanto, un método enzimático rápido y fiable para la predicción de digestibilidad y valor energético de los alimentos se debe considerar. (Getachew, G., et. al., 1998) Los ensayos de digestibilidad enzimática que utilizan enzimas en lugar de microorganismos han aparecido en gran medida como resultado de la mayor disponibilidad de enzimas producidas comercialmente. Los métodos enzimáticos de evaluación se utilizan rutinariamente como procedimientos de digestibilidad de punto final y la principal ventaja del método enzimático sobre los métodos de líquido ruminal es que no requiere una fistula animal como donante de inóculo. (McQueen, R., & Van Soest, P., 1975) Las carbohidrasas fúngicas que solubilizan polisacáridos estructurales de las paredes celulares de las plantas puede proporcionar un método alternativo para evaluar el potencial nutritivo de forrajes en rumiantes, como es el caso de preparaciones de *Aspergillus niger* y *Trichoderma. Viride* pueden ser utilizados para correlacionar con las digestibilidades In vivo e In vitro. (Pace, V., et. al., 1984) Por lo tanto, los métodos enzimáticos, en los que el licor ruminal ha sido reemplazado por celulasa, son más sencillos de utilizar y probablemente sean menos variables. Varias celulasas, desde *Trichoderma viride*, *Aspergillus*, *Rhizopus* o basidiomicetos, utilizados ya sea solo, en secuencia con enzimas proteolíticas o con otros tratamientos químicos. (Ribeiro, J., & Moreira, O., 2001) se

ha propuesto muchos métodos enzimáticos para predecir la digestibilidad. Estos métodos son ampliamente utilizados para forrajes y han sido aplicado a subproductos, concentrados y piensos mixtos producidos por la industria agroalimentaria. Para varios tipos de forrajes la predicción es mayor que con métodos químicos y comparable a la obtenida *In vitro*. Los métodos enzimáticos muestran una repetibilidad y reproducibilidad favorables, lo que permite una evaluación precisa de la predicción de la digestibilidad *in vivo*, excepto para forrajes que contienen taninos.

4.9.3 DETERMINACIÓN DE LA DIGESTIBILIDAD ENZIMÁTICA *IN VITRO* POR CELULASA

Fundamento

(De Boever, J., et. al., 1986) La muestra del alimento (pastos, forrajes, concentrados y balanceados), es tratado con una solución de Pepsina en ácido clorhídrico durante 24 horas en 39° C, seguido por calentamiento durante 45 minutos en 80° C. Después de la filtración el residuo es tratado con una solución buffer polisacarasa + gammanase para alimentos balanceados y materiales concentrados durante 24 horas en 39° C. Finalmente, la suspensión es filtrada, secada e incinerada.

Materiales y equipos

1. Crisoles filtrantes de boro silicato de vidrio con filtro y una porosidad del filtro P1 (40 – 90 μm); altura de 60 mm, diámetro: 44 mm, contenido: 50 ml; provisto en la parte inferior con un labrado
2. Cápsula de plástico que ingrese en la parte inferior que tiene el labrado del crisol
3. Incubadora con termostato regulado en 39° C $\pm$ 0.5° C
4. Baño de agua con termostato regulable en 80° C $\pm$ 1° C
5. Estufa con termostato regulable en 103° C $\pm$ 2° C
6. Mufla con termostato regulable en 550° C $\pm$ 5° C
7. Barra de agitación magnética de 1 cm de largo
8. Piscetas
9. Plástico Parafilm: resistente al calor en 80° C. (e.g. Nesco)

REACTIVOS

1. Ácido clorhídrico; C = 0.1 mol/l; tomar 25.2 ml de HCl de 37% de concentración y 1.19 de densidad y llevar a 1 litro de solución
2. Pepsina: 2000 FIP-U/g (e.g. Merck 7190), proveniente de la mucosa gástrica del porcino

3. Solución de Pepsina – Ácido clorhídrico: Disuelva 2 g de pepsina en 1 litro de ácido clorhídrico y caliente a 39° C (prepare una solución fresca el día de usar)
4. Ácido Acético al 96%
5. Acetato de Sodio $\text{CH}_3\text{COONa} \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ o Acetato de Sodio anhidro. Si utiliza el acetato de Sodio $3\text{H}_2\text{O}$ use 13.6 g y lleva la solución a 1 litro, pero si utiliza el acetato de sodio anhidro use solamente 8.3 g para 1 litro de solución
6. Solución A: Diluir 5.9 ml de ácido acético en agua y aforar a 1 litro
7. Solución B: Disolver 13.6 g de acetato de sodio $3\text{H}_2\text{O}$ o 8.3 g de acetato de sodio anhidro en agua destilada y diluir a 1 litro
8. Mezclar 400 ml de la solución A con 600 ml de la solución B. El pH debería ser chequeado cada vez antes de ser usado. Si es necesario, ajuste el pH por adición de la una o de la otra solución.
9. Solución buffer de acetato, debe ser de pH 4.8, y concentración = 0.1 mol/litro
10. Trichoderma viride # 39074 de BDH Chem. (U.K.)
11. Gammanase NCGD, líquido referencia QC/99 – 459 y viene en frascos de 750 ml, líquido de la casa BIOTAL de la U.K.
12. Solución de Enzimas: Disuelva 13.6 g Trichoderma viride # 39074 de BDH Chem. (U.K.) en un litro de la solución buffer de acetato. NOTA: Para concentrados y balanceados, añada gammanase a la solución de polisacarasa en una relación de 6 + 94 (v + v). Agite con una barra de agitación magnética en 39° C (prepare fresca).

PROCEDIMIENTO

1. El crisol filtrante de borosilicato que están tarados, secos y numerados que se encuentra en el desecador pesamos y registramos el peso.
2. Pesar 300.0 mg o 0.3000 g de la muestra en transferida a un crisol filtrante de borosilicato previamente tarado
3. Una vez pesadas las muestras colocamos en la base de cada crisol filtrante la tapa de plástico (cápsula). Por operación se sugiere que este trabajo se puede empezar el viernes en la tarde
4. Colocar la barrita de agitación magnética en cada crisol filtrante
5. Ubicamos los crisoles filtrantes con la muestra y la barra de agitación en la incubadora en 39° C. hasta el lunes para empezar el análisis

6. El lunes, saque los crisoles de la incubadora y añada 30 ml de la solución caliente de pepsina ácido clorhídrico $\pm 39^{\circ}\text{C}$, tomando la temperatura con un termómetro y cubra con una película de plástico de Parafilm.
7. Colocar los crisoles en la incubadora en 39°C . durante 24 horas.
8. Después de 5 horas saque de la incubadora, agite con un agitador magnético por unos 10 segundos aproximadamente y vuelva a la incubadora.
9. Transcurridas la 24 horas ponga los crisoles en el baño de agua en 80°C durante 45 minutos (los crisoles deben estar bajo el agua por lo menos las dos terceras partes).
10. Remueva la cápsula de plástico de la base del crisol y lave el papel Parafilm con agua, ayudados de una pisceta, filtre bajo succión y enjuague 3 veces con aproximadamente 30 ml de agua caliente ($\pm 60^{\circ}\text{C}$) que se encuentra en la pisceta.
11. Inmediatamente cierre el crisol nuevamente con la cápsula de plástico en la base inferior y añada 30 ml de la solución de enzimas caliente a $\pm 39^{\circ}\text{C}$
12. Cubra con plástico Parafilm (NESCO) y coloque en la incubadora a 39°C durante 24 horas
13. Después de 5 horas saque de la incubadora los crisoles filtrantes, agite con un agitador magnético por unos 10 segundos aproximadamente y vuelva a la incubadora.
14. Pasadas las 24 horas remueva la cápsula de plástico de la base del crisol filtrante, lave el papel Parafilm con agua, ayudados de una pisceta.
15. Filtre bajo succión y enjuague 3 veces con aproximadamente 30 ml de agua caliente ($\pm 60^{\circ}\text{C}$) que se encuentra en la pisceta.
16. Ponga los crisoles filtrantes con la muestra digerida y lavada en la estufa a 105°C durante toda la noche.
17. Saque los crisoles de la estufa y enfríe en le desecador
18. Pese y registre el peso a 0.1 mg exactamente (PESO A)
19. Una vez pesados los crisoles con las muestras secas y pesadas, coloque los crisoles en una mufla a 550°C durante 4 horas.
20. Baje la temperatura de la mufla hasta $\pm 200^{\circ}\text{C}$, de lo contrario se rompen los crisoles filtrantes de borosilicato
21. Seguidamente ubique todos los crisoles filtrantes con las cenizas en un desecador.

22. Pese los crisoles filtrantes con las cenizas a 0.1 mg de precisión. (PESO B)

Calculo y expresión de resultados

La digestibilidad enzimática de la materia orgánica (enzima DC_{mo}) en % es calculada como sigue:

$$\text{Enzima DC}_{\text{mo}} = 100 \times \frac{1 - (A - B) * 1000}{0.3 * (C - D)}$$

En donde:

A = Peso del crisol + el residuo después de secado en g

B = Peso del crisol + el residuo después de la incineración en g

C = Contenido de la materia seca de la muestra en g/kg

D = Contenido de cenizas en la muestra en g/kg

La digestibilidad obtenida de las muestras por analizar (A, B, N) en el tiempo Tx es entonces corregida por medio de las muestras estándares (S) usando una ecuación de regresión calculada como sigue:

$$\text{Enzima DC}_{\text{MO S}_{\text{ref}}} = a * + \text{Enzima DC}_{\text{MO S}_{\text{TX}}} + b$$

En donde:

Enzima DC_{MO S_{ref}} = Digestibilidad de la referencia

Enzima DC_{MO S_{TX}} = Digestibilidad determinada en tiempo Tx

Seguidamente reportamos unas ecuaciones de predicción realizadas por (De Boever, J., et. al., 1999), para predecir la digestibilidad in vivo, Energía Metabolizable en Mj/kg de la materia seca, Energía Neta de la lactancia, en unidades (VEM_{MS}), Energía Neta para engorde en unidades (VEVI_{MS}) de diferentes tipos de alimentos a partir de la digestibilidad enzimática In vitro por celulasa (*Trichoderma viride*) de la materia orgánica (DIC_{MO}) y parámetros químicos

Tabla 44. Predicción de Digestibilidad y Energía Metabolizable por celulasa

$Y = a + b_1X_1 + b_2X_2 + \dots + b_nX_n$	R ² %	RSD Mj	RSD %
Predicción de la digestibilidad In vivo (%) a partir de DIC _{MO} de Henos de gramíneas			
21.74 + 0.707 DC _{MO}	82		3.0
22.61 + 0.638 DC _{MO} + 0.072 CSA	88		2.5
53.28 + 0.391 DC _{MO} - 0.339 LAD	89		2.4
Predicción de la E.M. (Mj/kg MS) a partir de DIC _{MO} de Henos de gramíneas			

$-5.69 + 0.0952 \text{ DC}_{\text{MO}} + 0.0103 \text{ MS}$	85	0.40	4.2
$3.15 + 0.0816 \text{ DC}_{\text{MO}} + 0.0153 \text{ CSA}$	90	0.32	3.4
Predicción el VEM en base seca a partir de DIC_{MO} de Henos de gramíneas PDN leche			
$-707 + 9.608 \text{ DC}_{\text{MO}} + 1.005 \text{ MS}$	85	39	5.0
$152 + 8.255 \text{ DC}_{\text{MO}} + 1.519 \text{ CSA}$	91	31	4.0
Predicción el VEV en base seca a partir de DIC_{MO} de Henos de gramíneas PDN carne			
$-1099 + 12.343 \text{ DC}_{\text{MO}} + 1.250 \text{ MS}$	84	50	6.4
$-30 + 10.619 \text{ DC}_{\text{MO}} + 1.932 \text{ CSA}$	91	39	5.0

Lignina Acido Detergente (LAD), Carbohidratos Solubles en Agua (CSA), Materia Seca (MS) en g/kg MS. (Nota para transformar, multiplique el valor del laboratorio que viene en % por 10)

DC_{MO} en %.

Tabla 45. Predicción de Digestibilidad y Energía Metabolizable en concentrados¹

$Y = a + b_1X_1 + b_2X_2 + \dots + b_nX_n$	R^2 %	RSD Mj	RSD %
Predicción de la digestibilidad In vivo (%) a partir de DIC_{MO} de Concentrados normales.			
$3.03 + 0.891 \text{ DC}_{\text{MO}}$	85		2.0
$9.25 + 0.878 \text{ DC}_{\text{MO}} - 0.054 \text{ Cenizas.}$	87		1.8
Predicción de la E.M. (Mj/kg MS) a partir de DIC_{MO} de Concentrados normales			
$1.74 + 0.1213 \text{ DC}_{\text{MO}} + 0.0195 \text{ EE} - 0.0191 \text{ Cenizas} + 0.0015 \text{ PC}$	92	0.28	2.3
$*2.06 + 0.1128 \text{ DC}_{\text{MO}} - 0.0188 \text{ Cenizas.} + 0.0313 \text{ EE} + 0.0018 \text{ PC} - 0.00008 \text{ EE} \times \text{EE}$	93	0.26	2.2
Predicción el VEM en base seca a partir de DIC_{MO} de Concentrados normales PDN leche			
$-77 + 13.629 \text{ DC}_{\text{MO}} + 1.931 \text{ EE} - 1.841 \text{ Cenizas.}$	91	30	2.9
$*-44 + 12.779 \text{ DC}_{\text{MO}} - 1.800 \text{ Cenizas} + 3.179 \text{ EE} - 0.0080 \text{ EE} \times \text{EE}$	91	29	2.8
Predicción el VEV en base seca a partir de DIC_{MO} de Concentrados normales PDN carne			
$-399 + 18.460 \text{ DC}_{\text{MO}} + 2.138 \text{ EE} - 2.254 \text{ Cenizas}$	89	41	3.6
$*-350 + 17.206 \text{ DC}_{\text{MO}} - 2.193 \text{ Cenizas} + 3.981 \text{ EE} - 0.012 \text{ EE} \times \text{EE}$	90	39	3.5

Proteína Cruda (PC), Cenizas, Extracto Etéreo, (EE) en g/kg MS. (Nota para transformar, multiplique el valor del laboratorio que viene en % por 10)

DC_{MO} en %.

¹ Usar estas fórmulas cuando $\text{FC} < 190 \text{ g/kg MS}$, $\text{DC}_{\text{MO}} \geq 75\%$,

* No usar cuando $\text{EE} \geq 100 \text{ g/kg MS}$

Pruebas de digestibilidad *in vitro* por celulasa



Fig. 207. Crisol filtrante y Tapa par crisol



Fig. 208. Pesaje del crisol filtrante



Fig. 209. Pesaje de la muestra 300 mg



Fig. 210. Crisol filtrante + tapa + muestra



Fig. 211. Adición de Pepsina + HCl 30 ml



Fig. 212. Sellado del crisol con Parafilm

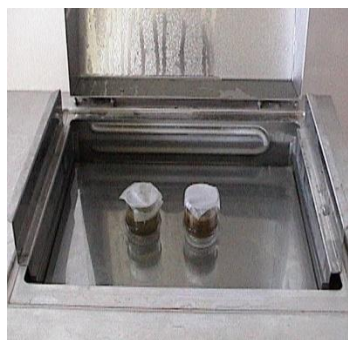


Fig. 213. Incubación por 24 horas a 39° C.



Fig. 214. Filtración y lavado digerido P+HCl



Fig. 215. Adición de solución Trichoderma V.



Fig. 216. Incubación por 24 horas a 39° C.

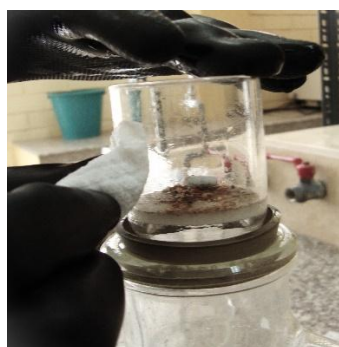


Fig. 217. Filtración digerido Trichoderma V



Fig. 218. Lavado del digerido Trichoderma V



Fig. 219. Secamiento en estufa a 105° C.

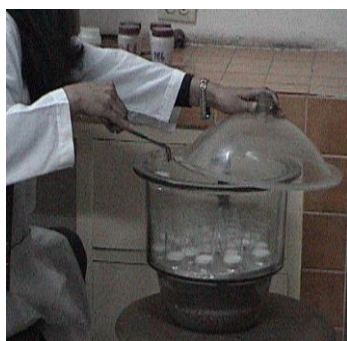


Fig. 220. Enfriamiento en el desecador



Fig. 221. Pesaje materia seca digerida



Fig. 222. Incineración en mufla a 600° C.



Fig. 223. Enfriamiento en el desecador



Fig. 224. Pesaje crisol + cenizas

4.10 Técnica In vitro de producción de gases

Para poder entender de mejor manera la técnica de producción de gases, vamos a recordarnos de principios básicos de la digestión en rumiantes (**Villanueva, M., 2024**) Los microorganismos ruminales llevan a cabo la digestión de los alimentos que consume el rumiante y a partir de los carbohidratos complejos (estructurales y de reserva) que contienen las plantas de la dieta de los rumiantes, producen ácidos grasos volátiles (A.G.V.), principalmente acético, propiónico y butírico, los cuales sirven como fuente de energía para los mismos microorganismos ruminales, pero también para los bovinos que absorben una parte importante de esos ácidos grasos volátiles producidos en el rumen. (**Sáenz, S., 2023**) Otros productos también obtenidos en la fermentación ruminal son el ácido láctico, ácido succínico, etanol, gases dióxido de carbono (CO_2), metano (CH_4), hidrógeno (H_2) y el ácido sulfhídrico (H_2S). Todos estos compuestos se obtienen principalmente de la glucosa o fructosa liberadas de los distintos biopolímeros o por proteínas de la dieta que fermentan las bacterias. (**Sobalvarro, J., et. al., 2020**). Las proteínas y grasas son menos afectadas por el proceso fermentativo y participan en menor proporción en la producción de gas. La fermentación in vitro de sustratos se lleva a cabo en tres fases, inicia con componentes solubles rápidamente fermentados, continua con la fermentación de la fracción insoluble, ambas fases requieren ser hidratadas y colonizadas

por los microorganismos ruminales y, por último, el gas producido por el reciclaje de la población microbiana y no por la fermentación del alimento. **(Garnsworthy, G., et. al 2019)** la producción de gases del ganado rumiante se genera durante la fermentación microbiana en el rumen y el intestino posterior de los animales rumiantes que han evolucionado con un sistema digestivo para digerir materiales vegetales de manera eficiente como la mayoría de los mamíferos, los rumiantes carecen de la enzima celulasa necesaria para romper los enlaces beta-glucosa. en celulosa, pero albergan diversas poblaciones de microbios del rumen que pueden digerir la celulosa y otros componentes vegetales. Cuando las bacterias, protozoos y hongos del rumen fermentan los carbohidratos y proteínas en materiales vegetales, producen estos ácidos grasos volátiles antes citados. Por otro lado, en el Rumen las arqueobacterias (Archaea) son microorganismos que combinan el hidrógeno metabólico con CO₂ para producir metano y agua. **(Rymer, C., et. al., 2005)** Cuando se incuba un alimento con líquido ruminal tamponado, primero se degrada y la fracción degradada puede ser fermentado para producir gas y ácidos de fermentación, o incorporado a la biomasa microbiana. **(Hetta, M., et. al., 2007)** La técnica de producción de gas, registra la producción de gas durante la degradación microbiana de una muestra de alimento suspendida en líquido ruminal tamponado. La técnica se puede utilizar para describir el patrón de degradación de los componentes solubles e insolubles del alimento. Al final de las incubaciones, se puede determinar la degradación a partir de los residuos sólidos, así como de la producción de A.G.V. En los estudios que utilizan la técnica de producción de gas (P.G.), se suele asumir que existe una relación constante entre P.G. y la digestibilidad de la materia orgánica (OMD) para cada alimento durante las incubaciones. **(Khazaal, K., et. al., 1995)** Considerando las ventajas del método de producción de gas y su precisión para predecir el rendimiento animal en comparación con otras técnicas de laboratorio in vitro, el método claramente tiene un potencial futuro importante o técnicas de producción de gas para predecir la ingesta diaria y la digestibilidad de la materia seca (DMD) aparente in vivo

(Sáenz, S., 2023) La técnica de producción de gas in vitro (PGIV), cuyo fundamento consiste en simular en laboratorio bajo condiciones controladas el ecosistema del rumen, así como parámetros ambientales tales como la temperatura, pH, anaerobiosis y el aporte de minerales, ha sido utilizada para evaluar forrajes, alimentos, dietas y aditivos en la fermentación ruminal. **(Getachew, G., et. al., 2002)** El método de PGIV se utiliza ampliamente para evaluar el valor nutritivo de diferentes clases de alimentos, en particular

para estimar el valor energético de estos para animales rumiantes. La técnica de producción de gas es más eficiente que otras técnicas in vitro para determinar el valor nutritivo de los alimentos. La técnica de medición de gas se considera un método rutinario de evaluación de alimentos después del trabajo de Menke et al. de 1979, donde se informó una alta correlación entre la producción de gas in vitro y la digestibilidad aparente in vivo. **(Ramirez, R., et. al., 2023)** Por su parte, la Técnica de Producción de Gas in vitro, es una técnica económica que se ha utilizado ampliamente para evaluar el efecto de diferentes forrajes, dietas y aditivos en la fermentación ruminal, y degradación de la materia seca. **(Sobalvarro, J., et. al., 2020)**. La producción de gas in vitro se relaciona con la composición química de los alimentos incubados, la proteína cruda tiene una influencia negativa y los carbohidratos no fibrosos poseen una relación positiva. **(Menke, K., & Steingass, H., 1988)** El método de producción de gas permite estimar la digestibilidad y el contenido de energía metabolizable (EM) de alimentos para rumiantes. La cantidad de gas liberado durante la incubación de los alimentos está estrechamente relacionada con la digestibilidad y por lo tanto con el valor de EM de los rumiantes. **(Posada, S., & Noguera, R., 2005)** El sistema de evaluación de la Universidad de Hohenheim combinó el volumen total de gas después de 24 horas de incubación con valores del análisis proximal, a saber, concentración de proteína cruda, grasa cruda, fibra cruda y cenizas, originando una ecuación ($R=0.98$) para la predicción del contenido de EM. **(Khazaal, K., et. al., 1995)** Se determinan los ácidos grasos volátiles totales (AGV) y las proporciones de AGV individuales en el sobrenadante de la muestra incubada en las jeringas de gas y el sobrenadante transparente se almacenó a -20°C se inyecta (0-2 a 0-3 μl) en un cromatógrafo de gases, **(Villanueva, M., 2024)** que cuenta un detector de ionización de flama y una columna HP-INOWAX, y se utilizó Argón como gas transportador. Las proporciones se calcularon a partir de las concentraciones molares de los tres ácidos grasos principales acético, propiónico y butírico. Por consiguiente **(Sáenz, S., 2023)**, la concentración y proporción de ácidos grasos volátiles (AGV's) se obtiene por cromatografía de gases, según lo descrito por **(Reyna, L., et al. 2021)**. Por otra parte **(Garnsworthy, G., et. al 2019)**, manifiestan que las cámaras de respiración para calorimetría indirecta de circuito abierto o cerrado se consideran el patrón de oro “Gold Estándar”, y se utilizan ampliamente en estudios de nutrición al establecer el sistema de energía metabolizable. Un solo animal (u ocasionalmente más) es confinado en una cámara durante entre 2 y 7 días, para medir la concentración de gases provenientes del sistema digestivo de los rumiantes. **(Villanueva, M., 2024)** Menke y Steingass en 1988

encontraron una alta correlación entre los resultados de energía metabolizable en pruebas in vivo y resultados predichos a partir de la producción de gas in vitro (PGIV) a las 24 horas, en combinación con resultados de composición química de las muestras de alimento evaluadas. Para calcular la digestibilidad in vitro de la materia orgánica (DIVMO) y el contenido de energía metabolizable de las dietas experimentales a evaluar, se utilizan los resultados de producción de gas obtenidos a las 24 h en las incubaciones de dietas en líquido ruminal in vitro, así como los resultados obtenidos en los análisis bromatológicos para determinar el contenido de proteína cruda, grasa cruda y cenizas, utilizando las ecuaciones propuestas por Menke y Steingass (1988).

4.11 VARIACIONES EN LAS ECUACIONES DE PREDICCIÓN EN DIFERENTES DIETAS

Dietas de concentrados

$$EM \text{ (Mj/kg MS)} = 1.06 + 0.157 \text{ PG}(24\text{h}) + 0.084 \text{ PC} + 0.22 \text{ EE} - 0.081 \text{ Cen}$$

Dietas de forraje

$$EM \text{ (Mj/kg MS)} = 2.20 + 0.136 \text{ PG}(24\text{h}) + 0.057 \text{ PC} + 0.0029 \text{ EE}^2$$

$$\text{DIVMO (\%)} = [0.889(\text{PG}24\text{h}) + 0.448(\text{PC}) + 0.651(\text{Cen}) + 14.88]$$

Donde:

E.M. =	Energía Metabolizable en Megajoulio/kg MS
DIVMO	Digestibilidad In vitro de la materia orgánica en %
PG24h=	Producción de gas a las 24 horas (ml/200 mg MS)
PC =	Proteína Cruda en g/kg de materia seca
EE =	Extracto Etéreo g/kg de materia seca
Cen =	Cenizas g/kg de materia seca

(Perrusquía, V., 2021) de igual manera realiza la predicción del contenido de energía metabolizable a partir de las mismas ecuaciones, pero en kilocalorías por kg de la materia seca:

Dietas de concentrados

$$EM \text{ (Kcal/kg MS)} = [157 (\text{PG}24\text{h}) + 8.4(\text{PC}) + 22(\text{EE}) - 8.1(\text{Cen}) + 1062]/4.184$$

Dietas de forraje

$$EM \text{ (kcal/kg MS)} = [146(\text{PG}24\text{h}) + 7(\text{PC})(10) + 22.4(\text{EE})(10) + 1242]/4.184$$

(Sobalvarro, J., et. al., 2020), da a conocer una serie de fórmulas utilizadas dentro de su investigación:

$$\text{ENI } 1\text{x Mcal/kg MS} = 0,54 + 0,0959 \text{ PG} + 0,0038 \text{ PC} + 0,0001733 \text{ PC}^2/4,184$$

(Menke, K., & Steingass, H., 1988)

$$\text{ENI } 1x \text{ Mcal/kg MS} = 0,08 + 0,1101 \text{ PG} + 0,0022 \text{ PC} + 0,0161 \text{ EE}/4,184$$

(Menke, K., & Steingass, H., 1988)

$$\text{ENI } 1x \text{ Mcal/kg MS} = 0,689 + 0,0134 \text{ PG} + 0,0771 \text{ EE}$$

(Seker, E., 2002)

$$\text{ENI } 1x \text{ Mcal/kg MS} = 0,205 + 0,0170 \text{ PG} + 0,0147 \text{ PC} + 0,0888 \text{ EE}$$

(Seker, E., 2002)

$$\text{ENI } 1x \text{ Mcal/kg MS} = (2,2 + 0,136 \text{ PG} + 0,057 \text{ PC} + 0,149 \text{ EE}) \times 2,2/14,64$$

(Sallam, S., et al. 2007)

Donde:

ENI 1x = Energía Neta lactancia en mantenimiento en Mcal/kg MS

PG = Producción de gas a las 24 horas (ml/200 mg MS)

PC = Proteína Cruda en % de la materia seca

EE = Extracto Etéreo % de la materia seca

(Zewdie, A., 2018) La técnica de producción de gas (P.G.) fue desarrollada para predecir la digestibilidad in vivo simulando la fermentación in vivo de diferentes alimentos. La técnica de P.G., y sus variantes son superiores a las técnicas de digestibilidad y degradabilidad, usados en otros métodos In vitro, porque tienen en cuenta las contribuciones a partir de fracciones solubles e insolubles del alimento al tiempo que proporciona información sobre la dinámica de la fermentación de este en condiciones de laboratorio. **(Pedraza, R., 1998)** La asociación entre la fermentación ruminal y la producción de gas ha sido desde hace mucho tiempo conocido, en un primer intento en 1939 se intentó registrar la producción de gas directamente a través de una cánula ruminal en ovinos, la técnica era demasiado difícil de ejecutar y de pobre reproducibilidad. **(Ribeiro, J., & Moreira, O., 2001)** La prueba de gas representa un sistema adaptado para proporcionar información continua y el elevado número de observaciones permite la aplicación de modelos con presencia de varios componentes del alimento y un enfoque sigmoidal. **(Colombatto, D., 2003)** La técnica genera datos de cinética de digestión, pero midiendo la fermentación del alimento en lugar de su desaparición. Esta fermentación se mide a través de la producción de gases, principalmente metano, dióxido de carbono (CO_2 y CH_4) e hidrógeno. **(Theodorou, M., et. al., 1994)** Las fermentaciones se realizan en jeringas grandes de vidrio esmerilado de 100 ml de capacidad, equipada con un émbolo y calibrada herméticamente al gas que contienen el alimento en un medio anaeróbico inoculado con fluido ruminal. A medida que el sustrato se fermenta, se producen gases y

el émbolo de la jeringa se ve obligado a subir dentro del cilindro. La tasa de fermentación del alimento se determina simplemente monitoreando la velocidad de ascenso del émbolo. **(Menke, K., et. al., 1979)**, se registra el gas producido durante un período de 96 h. de la incubación. Los medios usados para la fermentación incluyen licor ruminal y un tampón. La principal innovación en dicho método fue que se registre la producción de gas en lugar de su degradación. El mismo postulado continúa hasta hoy, incluso cuando el método ha sido simplificado y mejorado. **(Martínez, S., 2005)** En fecha reciente, **(Getachew, G., et al (2002)**, al estudiar la estequiometría de la fermentación ruminal con un sistema cerrado de jeringuilla, volvieron a lograr una producción de gas muy reproducible cuando un mismo sustrato fue incubado en diferentes corridas experimentales. **(Perrusquía, V., 2021)** Con el paso del tiempo se han realizado modificaciones y adecuaciones a dicha metodología, desarrollando métodos semiautomáticos o automáticos, que emplean dispositivos electrónicos, tales como transductores de presión y computadoras, los cuales posibilitan un registro, y almacenamiento más exacto de los datos de producción de gas. **O (Sáenz, S., 2023)** en las que se mide la acumulación de gas en el espacio de las cabezas de botellas. **(Getachew, G., et. al., 1998)** Wilkin en 1974 desarrolló un método automatizado de transductor de presión para medir la producción de gas por microorganismos. El sistema consistía en un transductor de presión y una válvula ecualizadora de presión unida a la tapa metálica de un tubo de ensayo que contenía inóculo y medio de cultivo, y la presión del gas se registró en un registrador de banda. Las técnicas de medición de gases disponibles son: a) Método de gas de Hohenheim o de Menke, b). Sistema de desplazamiento de líquido, c) Método manométrico y d) sistemas de transductores de presión: manuales, computarizados y en combinación del transductor de presión y el sistema de liberación de gas. Este transductor de presión automatizado sirve para medir la producción de gas desarrollada por los microorganismos. El sistema consta de un transductor de presión y una válvula ecualizadora de presión unida a la tapa metálica de un tubo de ensayo que contiene inóculo y medio de cultivo y la presión del gas se registró en un registrador gráfico digital. **(Sobalvarro, J., et. al., 2020)**. El gas que se produce a medida que avanza la fermentación y el perfil de acumulación de gas provee información sobre la digestibilidad del alimento y la cinética de la fermentación. **(Sáenz, S., 2023)** procedimiento en el que no es necesario medir el desplazamiento de un émbolo, sino que se mide la presión de gas al utilizar el transductor de presión manual, los resultados, obtenidos de presión en kg/cm² se transforman a ml de gas/g de materia seca o materia orgánica fermentada. La medición del volumen de gas producido ha

evolucionado mediante sensores de presión a tiempo real, en sistemas de expulsión de gases automatizados. Además, estos sensores pueden ser conectados inalámbricamente a una computadora donde se regula el tiempo y la presión. En la actualidad según **(Guzmán, M., 2015)** El Sistema de la Producción de Gas, ANKOMRF proporciona un método fácil de usar para monitorizar y medir los gases producido por fermentación en el interior de los frascos. Este novedoso equipo que aparece en el mercado, que permitiría monitorear y medir las cinéticas del metabolismo microbiano de forma automatizada, mediante el control de la presión del gas a través de sensores de la presión, se comunica la información a un ordenador mediante radiofrecuencia (RF). En cada unidad de fermentación (frascos) se encuentra una válvula electrónica que libera el gas acumulado al alcanzar una presión determinada, y se cierra tras alcanzar la presión atmosférica. Esta presión se asocia a un volumen de gas específico, que registra en una computadora el momento y número de aperturas de estas válvulas logrando un gran número de lecturas. **(Ribessi, R., et. al., 2020)** La ganadería es uno de los principales pilares de la economía en muchos países a nivel mundial, ya que genera numerosos puestos de trabajo a lo largo de su cadena productiva. Sin embargo, se sabe que esta área también es responsable de generar muchos impactos ambientales, por ejemplo, la emisión de metano (CH_4), que es la principal fuente antropogénica. Cada animal emite alrededor de 480 L de CH_4 por día, por lo que, por poner un ejemplo, la ganadería brasileña emite alrededor de 50 mil millones de litros de CH_4 por día. Este volumen representa un impacto ambiental, además de una pérdida de eficiencia en la alimentación de los animales, lo que afecta directamente los costos de producción. **(Guzmán M., 2015)** De acuerdo con la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO), la actividad ganadera genera aproximadamente 7.1 gigatoneladas de dióxido de carbono al año, 14.5% de las emisiones de gases de efecto invernadero (GEI). Las emisiones liberadas a la atmósfera por la actividad ganadera son óxido nitroso, metano y dióxido de carbono, siendo las principales fuentes de emisión la fermentación entérica o producción de CH_4 por el proceso digestivo de los rumiantes. El CH_4 es un potente gas con efecto invernadero, presentando un potencial de calentamiento de la Tierra aproximadamente 21 veces superior al del CO_2 . **(Ramirez, R., et. al., 2023)** En la ganadería, el CH_4 es producido por arqueas metanógenas y asociaciones simbióticas de protozoos durante la fermentación del alimento en condiciones anaeróbicas, **(Holguin V., et. al., 2021)** que obtienen energía al reducir el CO_2 con H_2 para formar CH_4 . La producción de metano

depende principalmente de la cantidad y calidad de los forrajes que consumen los animales.

La técnica de producción de gas (Ramirez, R., et. al., 2023) también se ha utilizado para estimar la emisión de gases de efecto invernadero (GEI). Es de mucha utilidad realizar trabajos que evalúen la existencia de una relación entre la producción de gas In vitro y cromatografía de gases al estimar la emisión de metano. Por otra parte, la Técnica de Producción de Gas in vitro (TPG), es una técnica económica que se utiliza y es de mucha beneficio para realizar trabajos que evalúen la existencia de una relación entre la TPG y cromatografía de gases al estimar la emisión de metano. (Garnsworthy, G., et. al 2019) los científicos han utilizado una variedad de métodos para medir la producción de CH₄. Los métodos incluyen cámaras de respiración, el hexafluoruro de azufre (SF₆), la técnica de trazador, muestreo de aliento durante el ordeño o la alimentación, el sistema Greenfeed y el láser detector de metano. (Bekele, W., et al. 2022) también estas emisiones se han cuantificado por espectroscopía infrarroja, no obstante, se ha señalado que una de las técnicas más exactas para medir emisiones de GEI in vitro es por cromatografía de gases. (Garnsworthy, G., et. al 2019) La técnica del gas trazador SF₆ se desarrolló en un intento de medir las emisiones de metano de los animales sin confinamiento en cámaras de respiración. Se toma una muestra de aire cerca de las fosas nasales del animal a través de un tubo conectado a un cabestro y a un recipiente de vacío que se lleva alrededor del cuello del animal o en su espalda. (Ribessi, R., et. al., 2020) Las cámaras de respiración se consideran el método de referencia porque permiten evaluar todos los gases intercambiados por los animales. Por lo tanto, se emplean con frecuencia para estudios metabólicos. Permiten controlar el flujo de gas y cuantificar la concentración de CH₄ en la entrada y salida de aire de la cámara. La cuantificación se realiza generalmente mediante cromatografía de gases o infrarroja no dispersiva



Fig. 225. Extracción licor ruminal animal fistulado



Fig. 226. Conservación licor ruminal



Fig. 227. Saturación con CO₂



Fig. 228. Pesaje de la muestra



Fig. 229. Unión licor ruminal + Saliva artificial



Fig. 230. Colocación de la muestra en frascos



Fig. 231. Adición a la muestra de la solución



Fig. 232. Preparación de los frascos con mangueras



Fig. 233. Digestión en baño maría a 39 °C



Fig. 233. Adición de solución equipo moderno



Fig. 234. Aparejando el equipo moderno con muestras



Fig. 235. Lectura producción de gases transductor

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICA

- Aguilar, B., & González, R., (1996). Protocolo de validación de métodos analíticos para la cuantificación de fármacos. *Revista Cubana de Farmacia*. Centro de Química Farmacéutica. Rev Cubana Farm V.30 N-1 Ciudad de la Habana. Cuba. pp 7
- Aguilar, L., (2014). Elaboración de una curva de calibración para perfil de aminoácidos en soya integral a través del método de espectroscopia de reflectancia en el infrarrojo cercano (nirs). Tesis de grado. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Universidad Central del Ecuador. Quito. Ecuador. pp 72
- Aguilera, J. (2001). Aportaciones al conocimiento de la nutrición energética de pequeños rumiantes, con particular referencia a ganado caprino. Unida de nutrición. Estación Experimental dell Zaidín. Granada. España. pp 565-596A.R.C. (1980). Agriculture Research Council. The nutrient requirements of ruminant livestock. Slough: Commonwealth Agricultura Bureaux.
- Ahmed M.M.M. & El-Hag, F. M. (2004). Degradation characteristics of some Sudanese forages and tree pods using in sacco and gas production techniques. *Small Rum. Res.*, 54 (1):147-156.
- Alomar, D., & Fuchslocher, R., (1997). Fundamentos de la espectroscopia de reflectancia en el infrarrojo cercano (NIRS) como método de análisis de forrajes. Instituto de Producción Animal. Facultad de Ciencias Agrarias. Universidad Austral de Chile. Valdivia. Chile. pp 9
- Alvarez, D. M., (2009). Eficiencia de la fermentación in vitro de los tractos gastrointestinales del monogástrico y del rumiante. Tesis de Grado presentada como requisito para optar el título de Magíster en Ciencias Agrarias. facultad de ciencias agropecuarias universidad nacional de Colombia
- Aman, P., & Graham, H., (2013). Chemical evaluation of polysaccharides in animal feeds. Swedish ubiversity of agricultural science, Uppsala. Sweden. pp 517
- AOAC (2000). Official methods of analysis of the Association of Official Analytical

- Chemist (17th Edition). AOAC International, Gaithersburg, MD, USA.
- Apráez, E. (2020). Análisis químico de alimentos para animales. Facultad de Ciencias Pecuarias. Universidad de Nariño. Editorial Universidad de Nariño, Primera edición. pp 294
- Araiza, E., Delgado, E., Carrete, F., Medrano, H., Solís, A., Murillo, M., Haubi, S. (2013) In situ ruminal degradability and in vitro digestibility of silages of maize and apple waste added with molasses. 1División de Estudios de Posgrado e Investigación Instituto Tecnológico de Durango.. Avances en Investigación Agropecuaria México pp 18
- Armas, J. (2015). Los aminoácidos en la nutrición animal. Boletín informativo. Gerente de zona aves pp 4
- Aufrere J, Michalet-Doreau B. (1988) Comparison of methods for predicting digestibility of feeds. Anim Feed Sci Technol; 20:203-218.
- Ayanz, A. (2006). Fundamentos de alimentación y nutrición del ganado. Alimentación y Nutrición Del Ganado. Universidad Politécnica de Madrid. España. pp 9
- Bach, K.E., (2001). The nutritional significance of "Dietary Fiber" analysis. Department of animal nutrition and Physiology. Danish Institute of Agricultural Sciences. Denmark. 90 3-20. pp 18
- Bailey, S., & Henderson, K., (2013). Consequences of Inter-Laboratory variation in chemical analysis. Agricultural Development and Advisory Service, Novel House London. Uk.. pp 517
- Baker, C., & Barnes, R., (2013). The application of Near Infra-Red Spectroscopy to forage evaluation in the agricultural development and advisory service. Agricultural development and advisory service. Starcross Devon. U.K. pp 517
- Balthrop, J., Brand, B., Cowie, R., Danier, J., De Boever, J., Jonge, L., Jackson, F., Makkar, H., Piotrowski, C., (2011). Quality assurance for animal feed analysis laboratories. Animal Production and Health. Manual FAO. Roma. pp 193
- Barber, G., Givens, D., Kridis, M., Offer, N., Murray, I., (1990). Prediction of the Organic Matter Digestibility of Grass Silage. Animal Feed Science and Technology, Elsevier Science Publishers B.V., Amsterdam Netherlands. pp 115-128
- Baumont, r., Prache, S., Meuret, M., Morand-Fehr, P.,. How forage characteristics influence behaviour and intake in small ruminants: a review, Livestock Production Science, Volume 64, Issue 1, 2000, Pages 15-28, ISSN 0301-622

- Bauza, R. (2012). Curso De Nutricion Animal, Tema 9: Bioenergética. Facultad de Agronomía, Montevideo Uruguay pp 1–14.
- Bayona, M., (2009). Microbiological evaluation of food acquired in streets of a northern area of Bogotá. Facultad de medicina. Universidad de Ciencias Aplicadas y Ambientales. Bogotá, Colombia. pp 9
- Bekele, W., Guinguina, A., Zegeye, A., Simachew, A., Ramin, M., (2022). Contemporary Methods of Measuring and Estimating Methane Emission from Ruminants. Institute of Biotechnology, Addis Ababa University, Addis Ababa Ethiopia. p 82-95
- Bender, A.E., (1982). New Protein Sources and Nucleic Acid Metabolism. Revista británica de nutrición. Symposium The three undred and sixty-eight meeting. Edinburgh School of Agriculture. University London. London pp 10
- Blanco, F., Casadiego, G., y Pacheco, P. (2011). The microbiological quality of food sent to a public health laboratory. Revista de salud pública. Bucaramanga. Colombia pp 13
- Blaxter, K. L. (1986) An historical perspective: the development of methods for assessing nutrient requirements. Proceedings of the Nutrition Society,45: 177-183.
- Blümmel, M. Makkar, H. P. S., Chisanga, G., Mtimuni, J. Becker, K. (1997). The prediction of dry matter intake of temperate and tropical roughages from in vitro digestibility/gas-production data, and the dry matter intake and in vitro digestibility of African roughages in relation to ruminant liveweight gain. Animal Feed Science Technology 70599 Stuttgart. Germany.
- Bochi, O., Carro, C., Valdés, C., González, J., López, S., (1999). Digestibilidad In Vitro de forrajes y concentrados: efecto de la ración de los animales donantes de líquido ruminal. Archivos de Zootecnia, Volumen 48 Departamento de Producción Animal. Universidad de León. España. pp 51-61
- Bondi, A., (1988). Nutrición Animal. Libro. Editorial Acribia S.A., Impreso en España. Zaragoza, España. pp 572
- Braham, J. E., Elias, L. G., Zaghi, S., Bressani, R., (1967). Effect of protein and Duration of Test on Carcass Composition, Net Protein Utilization (NPU) and on Protein Efficiency Ratio (PER). Institute of Nutrition of Central America and Panama. (INCAP). Guatemala. pp. 13
- Bravo, J. (2006). Caracterización nutricional de forrajes verdes, forrajes secos,

- concentrados y subproductos agroindustriales para la alimentación del ganado en la zona sur. Tesis presentada para optar al grado de licenciado en agronomía. Universidad Austral de Chile. Valdivia, Chile.
- Brogha, N., Pacchioli, M., Immovilli, A., Ruozzi, F., Ward, R., Formigoni, A., (2009). The use of near-infrared reflectance Spectroscopy (NIRS) in the prediction of chemical composition and in vitro neutral detergent fiber (NDF) digestibility of Italian alfalfa hay. Italian Journal of Animal Science. 1Dipartimento di Morfofisiologia Veterinaria e Produzioni Animali, Università di Bologna, Italy. pp 4
- Brown, L. D. (1966). Influence of intake on feed utilization. Journal of Dairy Science, 49(2), 223-230.
- Cabrera, A., (2014). Manual de prácticas de Nutrición Animal, Facultad de Ciencias Biológicas y Agropecuarias, Universidad Veracruzana, México, pp 84
- Cáceres, O., & González, E. (2015). Metodología para la determinación del valor nutritivo de los forrajes tropicales, Estación Experimental de Pastos y Forrajes “Indio Hatuey” Central España Republicana, CP 44280, Matanzas, Cuba, pp 87-103
- Calsamiglia, S. (1997). Nuevas bases para la utilización de la fibra en dietas de rumiantes. Departamento de Patología y Producción Animal Universidad Autónoma de Barcelona. España. XIII curso de especialización FEDNA. pp 16
- Campillo, N., (2011). Introducción al análisis químico. Tema 1. Grado de bioquímica. Murcia, España. pp 11
- Campos, A., Salguero, S., Albino, L., Rostagno, H., (2008). Aminoácidos en la Nutrición de Pollos de Engorde: Proteína Ideal. Departamento de Zootecnia. Universidad Federal de Viosa. Brasil. pp 16
- Caravaca, F. (2006). Introducción a la Alimentación y Racionamiento Animal. Universidad de Sevilla, pp-18. http://www.ucv.vc/fileadmin/user_upload/facultad_agronomia/Bases_para_la_Alimentación_Animal.pdf
- Carbajal Ángeles. (2013). Manual de nutrición y dietética. Departamento de Nutrición. Facultad de farmacia. Universidad Complutense de Madrid. España. 367 pp <https://www.ucm.es/nutricioncarbajal>
- Carmona, E., Carmona, J., & Solarte, W. (2012). Metodologías para determinar la

- digestibilidad de los alimentos utilizados en la alimentación canina
Methodologies to determinate the digestibility of foods used in feeding dogs.
Vet Zootec, 6(1), 87–97.
[http://200.21.104.25/vetzootec/downloads/MVZ6\(1\)_9.pdf](http://200.21.104.25/vetzootec/downloads/MVZ6(1)_9.pdf)
- Carrillo, M., Reyes, A., (2013), Vida Util de los alimentos. Revista Iberoamericana de las Ciencias Biológica y Agropecuarias. Universidad Autonoma de San Luis de Potosi. México. Vol. 2 Numero 3. pp 25
- Casimiglia, S., (1997). Nuevas bases para la utilización de la fibra en dietas de rumiantes. Departamento de Patología y Producción Animal. Universidad Autónoma de Barcelona. XIII curso de especialización FEDNA. España. pp 16
- Castillo, B., & González, R., (1996). Protocolo de validación de métodos analíticos para la cuantificación de fármacos. Revista Cubana Farmacéutica v.30 n.1 Ciudad de la Habana, Cuba. pp 8
- Castillo, M., (2007). Aplicación de la Espectroscopia NIR al Control Analítico de Procesos de la Industria Química. Tesis Doctoral. Departamento de Química. Universitat Autònoma de Barcelona. España. pp 231
- Chen, X. B. Y Gómez, M. J. (1995): Estimation of microbial protein supply to sheep and cattle based on urinary excretion of purine derivatives. An overview of the technical details. International Feed Resources Unit, Rowett Research Institute. Occasional Publication 192.
- Choct, M., (2016). Measurement of nutrients and nutritive value. In: Bedford, M.; Choct, M. and Massey H. Nutrition Experiments in Pigs and Poultry: A Practical Guide. CABI, UK. Chap. 5: 74 – 98
- Chumpawadee, S., Chantiratikul, A., & Chantiratikul, P., (2007). Chemical composition and nutritional evaluation of protein feeds for ruminants using an in vitro gas production technique. Journal of Agricultural Technology. Mahasarakham University. Thailand. pp 191-202
- Church, D., Pond, W., Pond, K., (2002). Fundamentos de Nutrición y Alimentación de Animales. Libro, segunda edición. UTEHA. Wiley. Editorial Limusa. México. pp 637
- Close, W., (2013). The evaluation of feedstuffs through calorimetry studies. A.F.R.C., Institute for grassland and environmental research, Shinfield, Reading U.K. pp 517

- Colombatto, D. (2003). Análisis de alimentos: Aplicaciones prácticas. Departamento de Producción Animal, Facultad de Agronomía, Universidad de Buenos Aires, Argentina, 10 pp
- Cook, C., & Ricis, L., (1951)., Comparison of the Lignin Ratio Technique and the Chromogen Method of Determining Digestibility and Forage Consumption of Desert Range Plants by Sheep. J. Animal Sci., 10: 565-573.
- Cottyn, B., De Boever, J., Vanacker, J., (1989). In vivo digestibility measurement of straws. National Institute for Animal Nutrition. Melle-Gontrode. Belgium. pp 36-46
- Cozzolino, D. (2002). El valor nutritivo de los alimento de los alimentos para animales que es y cómo se mide. El País agropecuario INIA. Uruguay. pp 25-28
- Cozzolino, D., Fassio, A., Fernández, E., (2003). Use of near Infrared reflectance spectroscopy to analyze corn silage quality. Agricultura Técnica. Voluen 63 No 4 Chile. pp 7
- Cruz, M. & Sánchez, J. (2000). La fibra en la alimentación del ganado lechero. Nutrición Animal Tropical, Vol. 6, N° I. Escuela de Zootecnia y Centro de Investigaciones en Nutrición Animal (CINA), Universidad de Costa Rica. San José, Costa Rica.
- Czerkawski, J., & Breckenridge, G., (1977). Design and development of a long-term rumen simulation technique (Rusitec). The Hannah Research Institute, Ayr KA6 5HL, Scotland. pp 371-384
- Davies, Z. S., Mason, D., Brooks, A. E ., Griffith, G. W., Merry, R. J., y Theodorou, M. K.,(2000). An automated system for measuring gas production from forages inoculated with rumen fluid and its use in determining the effect of enzymes on grass silage. Animal Feed Science and Technology. 2000. 83 (3/4). 205
- De Ayala, P., (1995). Nutrición y Alimentación del Caballo. Trouw Ibérica. S.A.. XI Curso de especialización FEDNA. Barcelona. pp 27
- De Blas, J., Pérez, E., Fraga, M., Rodriguez, J., & Gálvez, J.. (1981). Effect of diet on feed intake and growth of rabbits from weaning to slaughter at different ages and weights. Journal of Animal Science, 52(6), 1225-1232
- De Boever, J., Cottyn, B., Brabander, D., Vanacker, J., & Boucqué, Ch., (1999). Equations to predict digestibility and energy value grass silages, maize silages, grass hay, compounds feed and raw materials for cattle. National Institute for Animal Nutrition, Scheldeweg, Melle-Gontrode, Belgium. pp 835-850

- De Boever, J.L., De Brabander, D.L., De Smet, A.M., Vanacker J. M., and. Boucque Ch. V. (1993). Evaluation of Physical Structure. Maize Silage. National Institute for Animal Nutrition- Centre for Agricultural Research, Gent-Scheldeweg 68, B-9090 Melle-Gontrode, Belgium. Animal Feed Science Technology. 76 1624-1634. pp 11
- De Campaneere, S. (2000), energy and protein standards for finishing belgian blue double-muscle bulls. Tesis doctoral, Universidad de Gent. Melle Gontrode, Bélgica pp 209
- De Dios, G. (2012). Producción de biomasa y valor nutritivo del pasto Cuba CT-115 (*Pennisetum purpureum*) en un suelo cambisol. Tesis, Colegio de Postgraduados, campus Tabasco, México, pp 91
- De Gracia, M., (2011). Guía para el Análisis Bromatológico de Muestras de Forrajes. Laboratorio de Nutrición Animal. Facultad de Ciencias Agropecuarias. Universidad de Panamá. Panamá. pp 1-58
- Demarquilly, C. Chenost, M. Aubry, J. Chevalier, D., Jailler M., (1969). Etude de la digestion des fourrages dans le rumen par la méthode des sachets de nylon; liaisons avec la valeur alimentaire. Annales de zootechnie, 18 (4), pp.419-430. ffhah-00886982f
- Dewhurst, R., Hepper, D., Webster, A., (1995). Comparison of in sacco and in vitro techniques for estimating the rate and extent of rumen fermentation of a range of dietary ingredients. Animal Feed Science and Technology. University of Bristol, Langford, UK. pp 211-229
- Dhanoa, M. S.; J. France, L. A. Crompton, R. M. Mauricio, E. Kebreab; J. A. N. Mills, R. Sanderson, J. Dijkstra y López, S: (2004): "Technical Note: A Proposed Method to Determine the Extent of Degradation of a Feed in the Rumen from the Degradation Profile Obtained with the in vitro Gas Production Technique using Feces as the Inoculum", J. Anim. Sci., 82 (3): 733-746.
- Dieter Hess, H., (1998), Calidad nutricional y producción animal, Programa nacional de Transferencia de Tecnología (PRONATTA) CORPOICA, Villavicencio, Colombia, pp 28
- Doorenbos, J., Rinjen, M., Van Larr, H., Flores, A., (2004). Valoración nutritiva de materias primas en los países bajos, XX curso de especialización FEDNA, Barcelona, España, pp 22
- Duffau, B., Rojas, F., Guerrero, I., Roa, L., Rodríguez, L., Soto, M., Aguilera, M., &

- Sandoval, S., (2010). Validación de métodos y determinación de la incertidumbre de la medición: “Aspectos generales sobre la validación de métodos”. Instituto de Salud Pública. Santiago, Chile. pp 71
- Eastwood, M., (1992). The physiological effect of dietary fiber: an update. Department of Medicine, University of Edinburgh, Western General Hospital, Edinburgh EH4 2XU, United Kingdom. *Annu. Rev. Nutr.* 12:19-35
- Edmunds, D., (2013). Chemical Analysis of Lipids Fractions. Internal, King George Dock, Hull. U.K. pp 517
- Elizondo, J. (2020a). Estimación de la energía calórica en alimentos para ganado de leche según el modelo del NRC (2001). *Nutrición Animal Tropical*, 14(2), 39–50. Universidad de Costa Rica. San José, Costa Rica
<https://doi.org/10.15517/nat.v14i2.43614>
- Evans, E., & Witty, R., (1978). An Assessment of Methods Used to Determine Protein Quality. Research Centre. Toronto, Ontario, Canada. *Wld Rev. Nutr. Diet*, Vol. 32 pp 1-26
- Fahey, G., & Jung, H., (1983). Lignin as a marker in digestion studies: A review. *Journal of Animal Science*, vol. 57. U.S. pp 220-225
- FAO. (2017). Evaluación de la calidad de la proteína de la dieta en nutrición humana. Consulta de expertos. Artículo FAO. *Alimentación y Nutrición* 92. Roma, Italia. pp 240
- FEDNA (2000). Cenizas Insolubles en ácido clorhídrico. Técnicas de análisis. Fundación Española para el Desarrollo de la Nutrición Animal. España. pp 1-5
- Ferrari, M., Mottola, L., Quaresima, V., (2004). Principles, Techniques, and Limitations of Near Infrared Spectroscopy. Department of Biomedical Sciences and Technologies, University of L'Aquila. Aquila, Italy. pp 463-487
- Flatt, WP (1988). Sistemas de evaluación de piensos: antecedentes históricos. animales del mundo *Ciencia. Enfoque disciplinario B4* . (Editado por ER Ørskov). Editores científicos de Elsevier. págs. 1-22.
- Forejtová, J., Lád, F., Trinácty, J., Ritcher, M., Gruber, L., Dolezal, P., Homolka, P., Pavelek, L., (2005). Comparison of organic matter digestibility determined by in vivo and in vitro methods. *Journal Animal Science*. Czech Republic. Pp 45-73
- Fox, D. G., Tedeschi, L. O., Tylutki, T. P., Russel, J. B., Van Amburgh, M.E., Chase, L. E. (2004). The Cornell Net Carbohydrate and Protein System Model for

- avaluating herd nutrition and nutrient excretion. Animal Feed and Science Technology, Department of Animal Science, Cornell University, USA, pp 29-78
- Fuentes, J. M., Torres, M., Suarez, L., Ruíz, F., Murillo, M., Soto, M., & Ortiz, B. (2019). In Vitro Digestibility of Hydroponic Alfalfa (Medicago sativa L .). Universidad Autonoma Antonio Narro. Yucatán. México pp 3-8
- Fukushima, R., Kerley, M., Ramos, M., Porter, J., & Kallenbach, R., (2015). Comparison of acetyl bromide lignin with acid detergent lignin and Klason lignin and correlation with in vitro forage degradability. Division of Animal Sciences and Division of Plant Sciences, College of Agriculture, Food, and Natural Resources, University of Missouri, 920 E. Campus Drive, Columbia, Missouri 65211, U.S.A. pp 35
- Gaggiotti, M. (2008). Los alimentos y su valor nutritivo. XXI curso internacional de lechería para profesionales de américa latina, Estación Experimental Agropecuaria I.N.T.A. Rafaela. Argentina. pp 23-30
- Gaggiotti, M., Romero, L., Bruno, O., Comeron, E., Quaino, O., (1996). tabla de composición química de alimentos. Centro Regional Santa Fe. Laboratorio de Producción Animal. Sitio Argentino de Producción Animal Página. Argentina. pp 1-5
- Gallardo, M., (2006). Dietas balanceadas con forrajes conservados: la importancia de diagnosticar la calidad nutricional. Forrajes conservados en general. E.E.A. INTA Rafaela. Argentina. pp 1-3
- Galyean, M., Krysl, L. & Rstell, R., (1986) Marker Based Approaches for Estimation of Fecal Output and Digestibility in Ruminants. In: Owbens, F.N., Ed., Feed Intake by Beef Cattle: Symposium, Oklahoma Agricultural Experiment Station MP-121, Stillwater, 96-113.
- García E., & Fernández, I., (2012) Determinación de la humedad de un alimento por un método gravimétrico indirecto por desecación. Departamento de Tecnología de Alimentos. ETSIAMN. Universitat Politècnica de València. España. pp 7
- García, D., García, P., Gatica, F., Gatica, M., Cornall, V., (2009). Digestibilidad por el método del indicador en rumiantes. Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias. Universidad de Chile. Chile. pp 9
- Garcia, F. (2009). Evaluación de fuentes proteicas por medio de digestibilidad in vivo para elaboracion de dietas de juveniles de jurel. Centro de investigación

- científica y de educación superior de Ensenada. CICESE. Baja California. México. pp 55
- Garcia, P & Velasco, C. (2007). Evolución en el conocimiento de la fibra. Unidad de Nutrición Clínica y Dietética. Madrid. España. pp 7
- Garnsworthy, P., & Cole, D., (2013). University of Nottingham School of Agriculture. Sutton. Loughborough. Uk.. pp 517
- Garrido, A., Pérez, J., Guerrero, G., Gómez, A., (2003). Avances en la utilización de la tecnología NIRS. Aplicaciones. Departamento de Producción Animal. Universidad Politécnica de Córdoba. XIX Curso de especialización FEDNA. España. pp 25
- Getachew, G., Makkar, H., Becker, K., (2002). Tropical browses: contents of phenolic compounds, in vitro gas production and stoichiometric relationship between short chain fatty acid and in vitro gas production. University of Hohenheim. Journal of Agricultural Science. United Kingdom. pp 341-352
- Giraldo, L., Gutiérrez, L., Rúa, C., (2007). Comparison between in vitro and in situ protocols for estimating true digestibility of several tropical forages. Universidad de Antioquia. Revista Colombiana de Ciencias Agropecuarias, Medellin Colombia, pp 11
- Givens, D., De Boever, J., Deaville, E., (1997). The principles, practices and some future applications of near infrared spectroscopy for predicting the nutritive value of foods for animals and humans. 'Feed Evaluation and Nutritional Sciences, ADAS UK. National Institute for Animal Nutrition-Centre for Agricultural Research, Gent-Melle-Gontrode, Belgium. pp 83-114
- Godin, B., Agneessens, R., Gerin, P., Delcarte, J., (2011). Composition of structural carbohydrates in biomass: Precision of a liquid chromatography method using a neutral detergent extraction and a charged aerosol detector. CRA-W. Valorisation of Agricultural Products Department. Université catholique de Louvain. Earth & Life Institute, Bioengineering Group. Louvain-la-Neuve, Belgium. Pp. 2014-2026
- Goering, M., & Van Soest, P., (1970). Forage Fiber Analyses (Apparatus, Reagents, Procedures, and Some Applications). Animal Science Research Division , Agricultural Research Service. Animal Science Department , Cornell University, Ithaca , N.Y. USA. pp 26

- Goldman, A., Genizi A., Yuzari, A., Seligman, N. (1987). Improving the reliability of the two-stage in vitro assay for ruminant feed digestibility by calibration against in vivo data from a wide range of sources. *Anim Feed Sci and Techn* 18:233-245
- González, C., (2017). *Nutrición animal*. Facultad de Ciencias Agrarias. Universidad de Belgrano. Buenos Aires. Argentina. pp 97
- González, H., Lozano, G., Hernández, H., Orozco, A., y Holguin, C., (2015). Degradabilidad ruminal de subproductos alimenticios en borregos. efecto de la relación forraje-concentrado en la dieta. *Nutrición de rumiantes*. Universidad Autónoma de Ciudad Juárez Ciudad Juárez, Chihuahua, México. pp 34
- González, J., (1994). *Formulación de raciones para rumiantes en base aminoácidos digestibles: Interés práctico*. Departamento de Producción Animal. Universidad Politécnica de Madrid. X Curso de especialización FEDNA. pp 16
- González, K., (2018). El concepto de proteína ideal en cerdos. *La porcicultura como información actualizada de producción porcina*. pp 7
- Gorrachategui, M., (2009). Interpretación de resultados analíticos. *Métodos Químicos*. Ibérica de Nutrición Animal (INA). XXV Curso de Especialización FEDNA. Madrid. España. pp 12
- Grant, R., & Mertens, D. (1992). Development of buffer systems for pH control and evaluation of pH effects upon fiber digestion in vitro. *J Dairy Sci* 1992; 75:1581-1587
- Greenfield, H., & Southgate, D.A.T. (2006). Datos de composición de alimentos. In Segunda Edición. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación. F.A.O.. Roma. <https://www.fao.org/3/y4705s/y4705s.pdf>
- Groenewald, T., & Köster, H., (2006). Espectroscopia de Infrarrojo Cercano (NIR) - La técnica de análisis rápidos del futuro. *Engormix.com*. Análisis de alimentos. pp 9
- Guada, J.A., (1996). Características del sistema de Cornell (CNCPS) como modelo de valoración proteica y energética para rumiantes, Dpto. Producción Animal y Ciencia de los Alimentos, Universidad de Zaragoza, España, pp 19
- Guaita, M., (2014). Algunas consideraciones acerca del análisis de alimentos para rumiantes. *Nutrición Animal Aplicada*. Sitio Argentino de Producción Animal. Unidad Integrada Balcarce. INTA. Argentina. pp 160
- turbe, F., & Sandoval, J., (2011). *Análisis de Alimentos Fundamentos y Técnicas*. Facultad de QGuzmán,

- M., (2015). Contribución al conocimiento en la dinámica de los gases de fermentación ruminal. Tesis para optar por el Título Doctoral en biología. Universidad Nacional de San Luis. Argentina. pp 1-186
- Harmon, D., (2007). Enfoques experimentales para estudiar el Valor nutricional de los ingredientes de los alimentos para perros y gatos. Revista Brasileira de Zootecnia, Suplemento especial. pp.251-262
- Hetta, M., Nordheim, H., Gustavsson, A., Martinsson, K., (2008). Comparison of in vitro degradation of temperate forages using the gas production and filter bag techniques. Journal of the Science of Food and Agriculture. J Sci Food Agric 88. pp 199–206
- Higinio, V. (1995). Métodos biológicos en la evaluación nutricional de alimentos. Facultad de Ingeniería pesquera y de alimentos. Universidad Nacional del Callao. Perú. pp 16
- Holguin, V., Hilario, M., Mazabel, J., Quintero, S., Martens, S., Delgado, J., (2021). In vitro methane production and fermentative parameters of wild sunflower and elephant grass silage mixtures, either inoculated or not with epiphytic lactic acid bacteria strains. Revista Mexicana Ciencias Pecuarias;12(3). pp 789-810
- Ibrahim, M., Tamminga, S., Zemmenlink, G., (1995). Degradation of tropical roughages and concentrate feeds in the rumen. Animal Feed Science and Technology 54. Wageningen, The Netherlands. Elsevier. pp 81-92
- INRA. (2011). Institut National de la Recherche Agronomique, Objectivos y organización, pp 3
- INRA. (2018). Des Recherches Finalisées au service de l'agriculture. France Génétique, élevage, Targete Research to the service of Agriculture, pp 2
- Iturbe, F., & Sandoval, J., (2011). Análisis de Alimentos Fundamentos y Técnicas. Facultad de química. Universidad Nacional de México. México. pp 1-128
- Jaimes, L., Girardo, A., & Correa, H., (2018). De Parmentier a Van Soest y más allá: un análisis histórico del concepto y métodos de determinación de la fibra en alimentos para rumiantes. Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional de Medellín, Antioquia. Colombia. 2-10
- Janssens, Geert, Myriam Hesta, Valerie Debal, and Roland De Wilde. (2000). "The Effect of Feed Enzymes on Nutrient and Energy Retention in Young Racing Pigeons." ANNALES DE ZOOTECHNIE 49 (2): 151–156.
- Jara, M., (2018). Desarrollo de modelos de cálculo de necesidades nutritivas en

- ganado caprino mediante hoja de cálculo de excell. Tesis, Facultad de Veterinaria de la Universidad de Extremadura, España. pp 1-52
- Jaurena, G., Fernández, M., Wawrziewicz, M., (2023). Herramientas para la evaluación de alimentos para rumiantes. Cátedra de Nutrición Animal. Departamento de Producción Animal, Facultad de Agronomía. Universidad de Buenos Aires. Argentina. pp 55-68
- Jeraci, J., & Van Soest, P.. (1990). Improved methods for analysis and biological characterization of fiber. New developments in dietary fiber: physiological, physicochemical, and analytical aspects, USA. pp 245-263.
- Jiménez, P., (2007). Identificación de harinas de yuca (*Manihot esculenta* crantz) con alto contenido proteico mediante espectroscopia de infrarrojo cercano (NIRS). Tesis de grado. Universidad Nacional de Colombia. Producción Animal Tropical. CIAT. Colombia pp 71.
- Jones, D. I. H. & Hayward, M. Y. (1975): The effects of pepsin pre-treatment of herbage on the prediction of dry matter digestibility from solubility in fungal cellulase solution. *J. Sci. Food Agric.*, 26: 711-718.
- Juan, N., Romero, L., Bruno, O., 1995. Conservación del forraje de alfalfa, INTA, C.R., Cuyo, cap. 9. 173-192, Argentina.
- Juárez, A., Cerrillo, M., Gutiérrez, E., Romero, E., Negrete, J., Barragán, H., (2009). Assessment of the nutritional value of tropical grasses obtained from conventional analyses and in vitro gas production. *Técnica Pecuaria México*. México. 55-67
- Khazaal, K., Dentinho, M., Ribeiro, J., Ørskov, E., (1995). Prediction of apparent digestibility and voluntary intake of hays fed to sheep: comparison between using fibre components, in vitro digestibility or characteristics of gas production or nylon bag degradation. *Animal Science*, 61. pp 527-538
- Kolver, E., Muller, L., & Barry, M. (1998). Evaluation and Application of the Cornell Net Carbohydrate and Protein System for Dairy Cows Fed Diets Based on Pasture. *Journal of Dairy Science*, 81(7), 2029–2039.
- Kotb, A. & Luckey, T., (1972) Markers in nutrition. *Nutrition Abstracts and Reviews* 42: 8 13-845.
- Ku, J., (1994). El incremento calórico de alimentación en los rumiantes. Departamento de Nutrición Animal, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Universidad Autónoma de Yucatán. México. pp 263-269

- Lachmann, M., & Araujo, O., (2001). La estimación de la digestibilidad en ensayos con rumiantes. La Universidad del Zulia. Departamento de Producción e Industria Animal. Facultad de Agronomía. Departamento de Zootecnia. Maracaibo, Venezuela. pp 1-22
- Landau, S., Glasser, T., Dvash, L., (2005). Monitoring nutrition in small ruminants with the aid of near infrared reflectance spectroscopy (NIRS) technology: A review. Institute of Field and Garden Crops, Department of Natural Resources, Agricultural Research Organization, Small Ruminant Research Israel pp 1–11
- Leclercq, B., (2000). El concepto de proteína Ideal y el uso de aminoácidos sintéticos: Estudio comparativo entre pollos y cerdos. XIV Curso de especialización . Avances en nutrición y alimentación animal. INRA, France pp 13
- León, M., (2017). Evaluación de eficiencia de dos marcas diferentes de benzoato de sodio en zumo de naranja sobre pruebas microbiológicas. Tesis Universidad Ricardo Palma Lima Perú. pp 60
- Linn, J., & Martin, N., (1989). Forage quality tests and interpretation. Minnesota extension service. University of Minnesota. USA. AG-FO-2637. pp 6
- Llorente, A., García, A. I., Nicodemus, M. J., Villamide, M. J., Carabaño, R., (2005). Utilización de la nueva metodología para la determinación de la digestibilidad Ileal aparente y real en la valoración nitrogenada de harina de girasol en conejos. Dpto, Producción Animal. U. P. M., Madrid. España. Vol Extra No 26. Tomo II. pp 497-499
- Lofgreen, G. P., & Garret, W. N., (1968). A system for expressing net energy requirements and feed values for growing and finishing beef cattle. Universidad de California. USA, 793 - 806. pp 14
- López S., (2005) In vitro and In situ techniques for estimating digestibility. In: Dijkstra J, Forbes JM, France J, editores. Quantitative aspects of ruminant digestion and metabolism, 2nd ed. London: CABI Publishing. p.87-121.
- Lowenberg-Wilson (1970). Los alimentos y el hombre. Editorial Limusa Wiley. México 1970.
- Mac Loughlin, R., 2007. Proteína Metabolizable en la nutrición de bovinos de carne. Investigación y desarrollo agropecuario. Basado en el modelo 1 de Nutrient Requirements of beef cattle Sitio Argentino de Producción Animal. pp 4
- Madsen, J., Hvelplund, T., Weisbjerg, M., (1997). Appropriate methods for the evaluation of tropical feeds for ruminants. Animal Feed Science Technology 69.

- Elsevier. Denmark. pp 53-66
- Maiztegui, J. (2009). Los alimentos, Facultad de Ciencias Veterinarias; Universidad Nacional del Litoral, Argentina, pp 1-18
- Manriquez, J. (2006). La digestibilidad como criterio de evaluación de alimentos y su aplicación en peces y en la conservación del medio ambiente. Control de calidad de insumos y dietas acuicolas. Programa cooperativo gubernamental. F.A.O. Italia
- Manterola, H., Cerda, D., Mira, J. (1999). Los residuos agricolas y su uso en la alimentación de rumiantes. Fundación para la innovación agraria. Universidad de Chile. Santiago de Chile
- Martines, E., & Lira, L., (2010). Análisis y aplicación de las expresiones del contenido de humedad en sólidos. Centro Nacional de Metrología. Simposio de Metrología. Querétaro. México. pp 6
- Martinez, A. (2015). Valoración energética de alimentos, Unidad de Nutrición y Alimentación Animal, Departamento de producción animal, Universidad de Córdoba, España, pp 39
- Martínez, A., Argamentería, A., Delgado, B., (2014). Manejo de forrajes para ensilar. Servicio Regional de Investigación y Desarrollo Agroalimentaria (SERIDA) del Principado de Asturias, Villaviciosa, Asturias, España. pp 283
- Martínez, A., Perez, M., Perez, A., Gómez, G., (2010). Repercusión del sistema de valoración energetica sobre el coste de raciones para vacas lecheras. REDVET. Revista Electrónica de Veterinaria, vol. 11, núm. 4, abril, 2010, pp. 1-10. Málaga, España. pp 1-11
- Martinez, R. (2016). Predicción del valor energético de los alimentos para rumiantes. PROMRFA. (CISNA). Facultad de Agronomía. Universidad de Buenos Aires. Argentina. pp 2.
- Martinez, R., (2002). Caracterización nutricional del gandul (*Cajanus cajan*), basado en sus componentes químicos. desaparición In situ y cinética digestiva. Tesis. Universidad de Colima, Guadalajara, México. pp 91
- Martínez, R., Wawrzkievicz, M., & Jaurena, G. (2014). Intercomparación de resultados de digestibilidad in vitro obtenidos por diferentes técnicas. 34, 2014.
- Martinez, S., (2005). Implementación de la técnica de producción de gas in vitro con heces vacunas como inóculo y su empleo para evaluar el follaje de algunas leguminosas arbustivas. Tesis para optar por el Título de Máster en Producción

- Bovina Sostenible. Facultad de Ciencias Agropecuarias. Universidad de Camaguey. Cuba. pp 74
- Maruelli, J., (2017). Valoración nutritiva de los alimentos: importancia de la fibra en la alimentación animal. Tesina presentada para obtener el grado académico de licenciada en química. Universidad Nacional de la Pampa. Argentina. pp 52
- Masson, L., (1997). Métodos analíticos para la determinación de humedad, alcohol, energía, materia grasa y colesterol en alimentos. Organización de las naciones unidas para la agricultura y la alimentación. FAO. Capítulo 14. Universidad de Santiago Chile. Chile.
- Matos, A. & Chambilla, E. (2010). Importancia de la Fibra Dietética, sus Propiedades Funcionales en la Alimentación Humana y en la Industria Alimentaria. Revista de investigación en Ciencia y Tecnología de alimentos. Escuela de Ingeniería en Alimentos. Universidad Peruana Unión. pp 14
- Mayes, R. W. (1993): Estimation of dietary proportions of different plant species using n-alkanes. Seminar. Rowett Research Institute. Aberdeen, UK,
- Maynard, L., Loosii, J., Hintz, H., Warner, R., (1988). Nutrición Animal, libro, Séptima edición. Cuarta edición en español, Mc Graw Hill. México. pp 695
- Mcbee, R. H. (1953): Manometric method for evaluation of microbial activity in the rumen with application to utilization of cellulose and hemicellulose. Applied Microbiology, 1: 106-110.
- McCullough, M., Elliot, R., & Bastin, G., (1951). Use of the Chromnogen(s) Technique in the Determination of Seasonal Changes in Digestibility of Dry Matter and Protein of Pasture Forages. (Abs.). J. Dairy Sci., 34: 393.
- McDonald, E., Edwards, R., Greenhalgh, J., Morgan, C., (1995). Nutrición Animal. Libro. Editorial ACRIBIA, Zaragoza-España, Quinta edición. Impreso en España. pp 583
- McDonald, P., Edwards, R., Greenhalgh, J., & Morgan, C. (1995). Nutrición animal, 5a edición, Editorial Acribia, Zaragoza, España, pp 583
- McQueen, R., & Van Soest, P., (1975). Fungal Cellulase and Hemicellulase Prediction of Forage Digestibility. Journal of Dairy Science Vol. 58. Department of Animal Science Cornell University. Ithaca, N.Y., USA. pp 1483-1491
- Mehrez, A., & Ørskov, E., (1977). A study of the artificial fibre bag technique for determining the digestibility of feeds in the rumen. J. agric. Sci., Camb. The Rowett Research Institute, Bucksbum, Aberdeen, Great Britain. pp 645-650

- Méndez, L., (2020). Manual de prácticas de Análisis de Alimentos. Facultad de Química Farmacéutica Biológica. Universidad veracruzana. Xalapa, Veracruz. México. pp 150
- Menke, K. H., Raab, L., Salewski, A., Steingass, H., Fritz, D. & Schneider, W. (1979) : The estimation of the digestibility and metabolizable energy content of ruminant feedingstuffs from the gas production when they are incubated with rumen liquor in vitro. J. agric. Sci., 93: 217-222.
- Menke, K., & Steingass, H., (1988). Estimation of the energetic feed value obtained from chemical analysis and in vitro gas production using rumen fluid. Anim. Res. Dev. 28, 7-55.
- Menke, K., Raab, L., Salewski, A., Steingass, H., Fritz, D., Schneider, W., (1979). The estimation of the digestibility and metabolizable energy content of ruminant feedingstuffs from the gas production when they are incubated with rumen liquor in vitro. Institute for Animal Nutrition, University of Hohenheim, West Germany. J. agric. Sci., Camb., 93. pp 217-222
- Merchen, N., (1993). Digestión, absorción y excreción en los rumiantes. En: D. C. Church (Ed.). El rumiante, fisiología digestiva y nutrición. Tomo I. Editorial Acribia, S. A. Zaragoza, España. 191 - 223.
- Mercier, Y., Dalibard, P., & Nonis, M., (2013). Amino Acid Recommendations for feed formulation. Rhodimet. Nutrition Guide. pp 48
- Mertens, D., (1987). Predicting intake and digestibility using mathematical models of ruminal function. Symposium "Factors Influencing Forage Utilization in the Ruminant,". U. S. Dairy Forage Research Center, USDA. pp11
- Mertens, D., (2002). Measuring fiber and its effectiveness in ruminant diets. US Dairy Forage Research Center USDA. Plains Nutrition Council Spring Conference. San Antonio. Texas. USA pp 40-66
- Michalet, B., & Ould, M., (1992). In vitro and in sacco methods for the estimation of dietary nitrogen degradability in the rumen: a review. Station de Recherches sur la Nutrition des Herbivores. CRZV INRA. Animal Feed Science and Technology, France. pp 57-86
- Mieres, J. (2004). Guía para la alimentación de rumiantes. Programa Nacional de Bovinos para Lcehe. INIA. Montevideo. Uruguay . pp 92
- Mieres, J., (2019). Uso de marcadores para determinación de consumo y digestibilidad. Proyecto Nacional de Lechería, INIA La Estanzuela. Colonia,

- Uruguay. pp 1-7
- Mika, V., (1981). Some remarks on the determination of acid-detergent fibre in feeds with cetyltrimethylammonium bromide versus determination of detergent fibre with alkylarylsulfonic acid. Institute of Grassland and Forage Research, Federal Research Centre of Agriculture. Animal Feed Science and Technology, Elsevier Scientific Publishing Company, Amsterdam. The Netherlands. pp 4
- Minson, D. (1981). Nutritional differences between tropical and temperate pastures. World Animal Science. En F. Morley (ed.) Animales de pastoreo, Ciencia animal mundial. Ámsterdam, Países Bajos: Elsevier. pp 143-157
- Morán, L., Rivera, A., González, M., Torres, M., López, M., & Irlles, J. (2015). Historia de los métodos de valoración del consumo alimentario y aplicaciones. Rev. Esp. Nutr. Comunitaria, 21(supl.1). 7 pp
<https://doi.org/10.14642/RENC.2015.21.sup1.5046>
- Morón C., Zacarías, I., Pablo, S., (1997). Producción y manejo de datos de composición química de alimentos en nutrición. Organización de las naciones unidas para la agricultura y la alimentación. Dirección de alimentación y nutrición oficina regional de la FAO para américa latina y el caribe. Santiago de Chile. Chile. pp 1-25
- Moughan, P., Verstegen, M., Visser-Reyneveld., (2000). Feed evaluation, Principles and practice. Printed in Netherlands. Wageningen Pers. pp. 285
- Murillo, B. (1994), Manual de laboratorio, Nutrición Animal, Departamento de Zootecnia, Escuela Agrícola Panamericana, Zamorano, pp 121
- Murillo, B. (1994), Manual de laboratorio, Nutrición Animal, Departamento de Zootecnia, Escuela Agrícola Panamericana, Zamorano, pp 121
- N.A.P. (1981). Nutritional energetics of domestic animals and glossary of energy terms. Sybcommittee of Biological Energy, Committee of Aniaml Nutrition. National Academies Press. pp. 63
- N.R.C., (2022). Nutrient Requirements of Dairy Cattle. Eighth Revised Edition. Animal Nutrition Series. The National Acaddemic Press. pp. 367
- Narváez, W., Toro, P., & Giraldo, C. (2012). Digestibilidad de materias primas energéticas extrusadas en la alimentación de codornices. Universidad de Caldas. Colombia 11(2), 59–69.
- Nielsen, S., (2010). Food Analysis. Cuarta edición. Purdue University. West Lafayette. USA. Department Food Science. pp 585

- Noblet, J., (2010), Desarrollos Recientes y Nuevas Perspectivas en la Valoración de Alimentos para Ganado Porcino INRA, Saint Gille France, AFZ, París France, pp 131-150
- Noblet, J., Seve, B., Tran, G., (2004), Valoración energética y proteica de alimentos para porcino: propuestas francesas, INRA, Saint Gille France, AFZ, París France, pp 63-75
- Nouel, B., (2003). Manual de prácticas de laboratorio de nutrición y alimentación animal, Departamento de Producción Animal, Universidad Centroccidental Lisandro Alvarado, Tarabana, Venezuela, pp 109
- Nouel, G., (2003). Manual de Prácticas de Laboratorio de Nutrición y Alimentación Animal. Departamento de Producción Animal. Lisandro Alvarado Decanato de Agronomía. Universidad Centro Occidental. Tarabana. Venezuela. pp 109
- NRC, (2012). (National Research Council of the National Academies). Nutrient require-ments of swine. Eleventh Revised Edition. The National Academies Press. Washing-ton DC. USA. ISBN 978-0-309-22423-9.
- Ojeda, Á. (2010). Requerimientos nutricionales proteína. Bases para su comprensión en especies de interés zootécnico. Departamento de Producción Animal. Facultad de Agronomía. Universidad Central de Venezuela. Maracay. Venezuela. pp 25
- Ojeda, M., (2012). Evaluación del Grado de Homologación Analítica de Forrajes y Concentrados en Laboratorios Nacionales. Tesis. Escuela de Agronomía Universidad Austral de Chile. Facultad de Ciencias Agrarias. Valdivia – Chile. pp 56
- Olanite, J.A. & Arigbede, O.M., (2011). Forage quality and conservation, Deparment of pasture and rabge management. Universidad de Agreiculture,Abeokuta, Nigeria, pp 1-29
- Oldman, J., & Emmans, G., (2013). Animal Perfomence as the criterion for feed evaluation. Edinburgh School of Agriculture. West, West Mains Road. Edinburgh. U.K. pp 517
- Ørskov, E. R., & McDonald, I., (1970): The estimation of protein degradability in the rumen from incubation measurement weighted according to rate of passage. J, agric. Sci. Printed in Great Britain. pp 499-503
- Ørskov, E., Hovell, F., Mould, F., (1980). The use of the nylon bag technique for the evaluation of feedstuffs. Rowett Research Institute, Bucksburn, Aberdeen,

- Scotland. Tropical Animal Productions. Merida, Mexico. pp 195-213
- Osborne, B., & Fearn, T. (1986). Espectroscopia de infrarrojo cercano en el análisis de alimentos. Composición de alimentos. Longman Scientific & Technical Harlow, Essex, Inglaterra. pp 200
- Osbourn, D., Cammell, S., Terry, R., Outen, G., (1975). Forage composition and the conduct of digestion trials for the comparative evaluation of laboratory procedures. Grassland research institute. Bershire. Great Britain. pp 101-105
- Oviedo, G. (2010). Normas Francesas De Alimentacion De Los Rumiantes. INRA. Instituto Nacional de investigaciones Agronómicas. UNAM, Cuautitlan. Universidad Nacional Autonoma de México pp 46.
- Owens, F., & Hanson, Ch., (1992). External and Internal Markers for Appraising Site and Extent of Digestion In Ruminants. Symposium: external and internal markers. Oklahoma State University. J Dairy Sci. pp 2605-2617
- Ozaki, Y., Huck, C., Tsuchikawa, S., Engelsens, S., (2021). Near-Infrared Spectroscopy. Theory, Spectral Analysis, Instrumentation, and Applications. Gateway East, Singapore 189721, Singapore. pp 1-30
- Pace, V., Barge, M., Settineri, D., Malossini, F., (1984). Comparison of forage digestibility in vitro with enzymic solubility. Animal Feed Science and Technology. Elsevier Science Publishers., Amsterdam. pp 125-136
- Palacios, M., (2018). La etapa de preparación de la muestra en los métodos analíticos. Trabajo de fin de grado. Facultad de Farmacia. Universidad de Sevilla. España. pp 37
- Paquete, N., (1997). Análisis de fibra dietética. Organización de las naciones unidas para la agricultura y la alimentación. FAO. Capítulo 16. Universidad de Santiago Chile. Chile.
- Parsi, G., Miazzi, R., Maffioli, R., Echevarría, A., & Provencal, P. (2001). Valoración nutritiva de los alimentos y formulación de dietas. Cursos de Producción Animal. FAV UNRC. www.produccion-animal.com.ar
- Pedraza, R. (2001). Estimación del valor nutritivo de los alimentos para rumiantes con énfasis en las técnicas in sacco y de producción de gas in vitro . Artículo reseña. Revista Producción Animal, Vol-13(1), 45–51. Centro de Estudios para el Desarrollo de la Producción Animal (CEDEPA). Facultad de Ciencias. Agropecuarias. Universidad de Camagüey. 7 pp.
- Pedraza, R., (1998). Use of in vitro gas production technique to assess the contribution

- of both soluble and insoluble fractions on the nutritive value of forages. Tesis para obtener el grado de maestría en nutrición animal. Universidad de Camagüey, Cuba. pp 1-64
- Pereyra, F., Nuñez, R., (2010). Nutrient requirements of Beef Cattle. National Research Council, curso de postgrado, Alimentos para rumiantes. UDELAR, PP 7
- Perrusquía, V., (2021). Determinación de la producción de gas in vitro y valor nutricional de forrajes y suplementos para ovinos y caprinos. Tesis para obtener el grado de maestría en ciencia animal. Universidad Autónoma de Nuevo León. México. pp 1-83
- Picallo, A. (2009). Análisis sensorial de los alimentos. Análisis sensorial de los alimentos. Facultad de Agronomía Universidad de Buenos Aires. Argentina N 46, pp 8. <http://repositorioubas.sisbi.uba.ar>
- Pirela, M. (2005). Valor nutritivo de los pastos tropicales, Manual de Ganadería de doble propósito, Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas (INIA), Venezuela, pp 1-7
- Posada, S., & Noguera, R., (2005). Técnica in vitro de producción de gases: Una herramienta para la evaluación de alimentos para rumiantes. Universidad de Antioquia, Facultad de Ciencias Agrarias GRICA, Medellín, Colombia. pp 1-18
- Posada, S., Rosero, R., Rodríguez, N., Costa, A., (2012). Comparación de métodos para la determinación del valor energético de alimentos para rumiantes. Universidad de Antioquia, Facultad de Ciencias Agrarias, Grupo de Investigación en Ciencias Animales, Medellín, Colombia. pp 3184-3191
- Prevolnik, M., Cander, M., Skorjanc, D., (2004). Ability of NIR spectroscopy to predict meat chemical composition and quality – a review. Agricultural Institute of Slovenia. Faculty of Agriculture, University of Maribor, Maribor, Slovenia. pp 500-510
- Prieto, N., (2006). Aplicación de la tecnología nirs para estimar parámetros indicativos de la calidad de la carne de vacuno. Memoria presentada para optar al grado de Doctor. Departamento de Producción Animal. Universidad de León. España. pp 304
- Putnam, D., Robinson, P., & De Peters, E., (2008). Forage Quality and Testing. In: Gebbes Ch and Putnam D. Irrigated Alfalfa Management for Mediterranean and

- Desert Zones. University of California. USA. Chapter 16: 241 – 264
- Quins, J. I., Van Der Wath, J. G. Y Mayburgh, S., (1939): Studies on the alimentary tract of merino sheep in South Africa. IV. Description of experimental technique. Onderstepoort J. Vet. Sci. Anim. Ind., 11. pp. 341-360.
- Ramírez, R. (2009). Nutrición de rumiantes. Sistemas extensivos. 2da Edición. U.A.L.M.. Trillas, México. pp 314
- Ramírez, R., Pinto, R., Miranda, L., La O, M., Hernández, D., Raj, D., (2023). Predicción de metano de dos frutos arbóreos por cromatografía de gases y gas In vitro. Ecosistemas y Recursos Agropecuarios. México. pp 1-8
- Ramírez, S., (2010). Digestibilidad de diversos granos y pastas proteicas utilizadas en la alimentación del ganado. Monografía para obtener el título de médico veterinario zootecnista. Universidad autónoma Agraria “Antonio Narro”. Torreón Coahuila. México. pp 1-34
- Ramonet, Y., Meunier-Salaun, C. & Dormand, J., (1999). High-Fiber Diets in Pregnant Sow: Digestive Utilization and Effects on the Behavior Of the Animals. INRA., Station de Recherches Porcines Saint-Gilles. France. pp 9
- Ramos, A. (2013). Composición química y valor nutricional de los alimentos para animales. Evaluación y manejo de alimentos 54 pp. <http://www.fagro.edu.uy/~nutriral/ensenanza/AVIWEB/cursoema/Tecnicas2013.pdf>
- Reeves, J., (2000), Uso de espectroscopia de reflectancia de infrarrojo cercano., CABI, (185–207), Metabolismo y nutrición de animales de granja CABI Publishing, Laboratorio de Conservación y Metabolismo de Nutrientes Instituto de Ciencias Ganaderas y Avícolas Servicio de Investigación Agrícola USDA Beltsville Maryland EE. UU. pp 185-207
- Restaino, E., Fernández, E., La Manna, A., Cozzolino D., (2009). Prediction of the nutritive value of pasture silage by near infrared spectroscopy (NIRS). 1 Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria INIA. Colonia, Uruguay. pp 560-566
- Reyes, N., & Mendieta, B., (2000). Determinación del valor nutritivo de los alimentos. Facultad de Ciencia Animal. Universidad Nacional Agraria. Managua. Nicaragua. 1-45
- Reyna, L., Cruz, A., Alfaro, J., Suárez, S., (2021). Evaluation of the production of biohydrogen during the co-digestion of organic wastes in an upflow hybrid anaerobic reactor. published by Elsevier. Universidad Autónoma de Nuevo

- León. México. pp 1-38
- Ribeiro, J.M.C.R., & Moreira, O.M.S.C. (2000). Comments on feed evaluation methods used in the project, Estaçáo Zootécnica Nacional, Instituto Nacionadle Investigaçáo Agraria (INIA). Vale de Santarém, Portugal. 13 pp
- Ribessi, R., Vanlierde, A., Rodriguez, J., Baeten, V., (2020). Infrared spectroscopy and multivariate method to quantify methane in gas sample emitted by cows. *Vibrational Spectroscopy* 108-103059. Elsevier. pp 1-8
- Rijnen, M., (2003). Energetic Utilization Of Dietary Fiber In Pigs. Tesis. Wageningen University, Wageningen Institute of Animal Scinces. Wageningen. The Netherlands. pp 168
- Rinehart, L. (2008). Nutrición para rumiantes en Pastoreo. ATTRA - Servicio Nacional de Información de Agricultura Sostenible. Departamento de Agricultura de Estados Unidos. pp 20
- Rivera, A., & Alba, J., (2017). Revisión: NIRS en el análisis de alimentos para la nutrición animal. revista ingenio UFPSO – Vol. 13 – Universidad Francisco de Paula Santander. Colombia. pp 14
- Rivera, R., (2020). Procesos de Calidad en laboratorio. Contyquimic. Bulletin informative. pp 1-4
- Robertson, J., & Van Soest, P., (1981). The detergent system of analysis and its application to human foods, In *The Analysis of Dietary Fibre in Food*. Vol 3. Chapter 8, Analysis of forage and fibrous foods. A Laboratory Manual for Animal Science 613. Cornell University, Ithaca, New York, USA. pp 300
- Rodriguez, A., (2006). Características físico químicas de trichanthera gigantea; morus alba y erythrura poeppigiana y su efecto en la fisiología digestiva y comportamiento del cuy. Tesis presentada en opción al grado científico de Doctor en Ciencias Veterinarias. La Habana. Cuba pp 107
- Rodríguez, N., Simoes, E., Guimarães, R., (2007). Uso de indicadores para estimar consumo y digestibilidad de pasto. LIPE, lignina purificada y enriquecida. *Revista Colombiana de Ciencias Agropecuarias*. Universidad Federal de Minas Gerais, Brasil. pp 518-525
- Rodriguez, P., García J., & Blas, C. (2000). Fibra soluble y su implicación en nutrición animal: enzimas y probióticos. XIV Curso de especialización. Avances en Nutrición y Alimentación Animal. FEDNA. Universidad Politécnica de Madrid. España. pp 17

- Rojas, A., (2011). Conceptos y práctica de microbiología general. Universidad Nacional de Colombia. Sede Palmira. pp 161
- Romero. N., (1997). Métodos de análisis para la determinación de nitrógeno y constituyentes nitrogenados en alimentos. Métodos de determinación de nitrógeno total. Organización de las naciones unidas para la agricultura y la alimentación. FAO. Capítulo 15. Universidad de Santiago Chile. Chile.
- Rostagno, H., Teixeira, L., Hannas, M., Donzele, J., Sakomura, N., Perazzo, F., Saravia, A., Teixeira, M., Rodrigues, P., Oliveira, R., Toledo, S., Oliveira, C., (2017), Tablas Brasileñas para aves y cerdos, Composición de alimentos y requerimientos nutricionales, 4ª Edición, Departamento de Zootecnia, Universidad Federal de Viçosa, Brasil, pp 488
- Roudybush, T., Anthony, D., & Vohra, P. (1974) The use of polyethylene as an indicator in determination of metabolizable energy of diets for Japanese quail. Poultry Science. Department of Avian Sciences, University of California, California, USA. pp 1894-1896
- Ruiz, M., & Ruiz, A., (1990). Nutrición de Rumiantes: Guía Metodológica de investigación. Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura (IICA) Primera edición. San José. Costa Rica. pp 345
- Ruiz, R. (2000). Aplicación de los principios nutricionales para elevar el consumo voluntario en rumiantes. Alimentación y salud animal en el trópico, Resúmenes del Taller Cuba – Venezuela. Congreso Internacional sobre Mejoramiento Animal. 3 al 5 de Mayo, La Habana, Cuba.
- Rymer, C. & Givens, D. I. (1999): Predicting the apparent disappearance of starch in the rumen of cows from the in vitro gas production profile of their diet. Proceedings of the British Society of Animal Science, Scarbouroug, UK. p. 157
- Sainz, R., Fernández, C., & Baldwin, R. (1994). Valoración de alimentos para rumiantes en cebo : el sistema americano NRC, Department of Animal Science. Universidad de California, Davis, USA, pp 13
- Rymer, C., Huntington, J., Williams, B., Givens, D., (2005). In vitro cumulative gas production techniques: History, methodological considerations and challenges. Animal Feed Science and Technology. ELSEVIER. pp 9-30
- Sáenz, S., (2023). Efecto del inóculo (líquido ruminal o excretas) sobre la producción de gas y ácidos grasos volátiles in vitro de alimentos para ovinos. Tesis para obtener el grado de maestría en ciencia animal. Universidad Autónoma de

- Nuevo León. México. pp 94
- Salas-Salvadó J, García-Lorda P, Sánchez JM. La alimentación y la nutrición a través de la historia. Editorial Glosa. 2005.
- Salcedo, J. (2016). Descripción de la metodología del sistema Weende utilizada en laboratorio, para el análisis de alimentos para animales. Tesis Universidad Francisco de Paula, Santander Ocaña, facultad de ciencias agrarias y del ambiente programa de zootecnia Ocaña, Colombia
- Sales, J., & Janssens, G., (2003a). Acid-insoluble ash as a marker in digestibility studies: a review. Laboratory of Animal Nutrition, Department of Animal Nutrition, Faculty of Veterinary Medicine, Ghent University, Merelbeke, Belgium. pp 383-401
- Saliba, E., Gontijo, M., Rodríguez, N., Miranda, L., Obeid, J., Teixeira, G., Oliveira, M., (2003). Predição da composição química do sorgo pela técnica de espectroscopia de reflectância no infravermelho próximo. Escola de Veterinária da UFMG. Universidade Federal de Viçosa. Brasil. pp 5
- Sallam, S., Nasser, M., El-Waziry, A., Bueno, I., Abdalla, A., (2007). Use of an in vitro Rumen Gas Production Technique to Evaluate Some Ruminant Feedstuffs. Journal of Applied Sciences Research, 3(1). pp 34-41
- Sánchez, M., (2004). Historia de la Nutrición. Facultad de Humanidades. Universidad de San Carlos, Guatemala. Tesis. pp 76
- Sankey, C., (2002). Comparative digestibility by cattle versus sheep: effect of forage quality. Tesis, Bachelor of Science, Oklahoma State University, Stillwater, Oklahoma. USA. pp 1-47
- Santini, F., (2014). Nutrición Animal Aplicada, Área de Investigación en Producción Animal, INTA, EEA, Balcarce, Facultad de Ciencias Agrarias, Argentina, pp 160
- Savón, L., & Gutiérrez, O., (1999). Propiedades físico - químicas de la fibra. Departamento de fisiología. Instituto de Ciencia Animal, Habana, Cuba, pp 22
- Savón, L., (2002). Alimentos altos en fibra para especies monogástricas. Caracterización de la matriz fibrosa y sus efectos en la fisiología digestiva. Revista Cubana de Ciencia Agrícola, Tomo 36, No 2, ICA, Cuba, 91-102 pp.
- Savón, L., Scull, I., Orta, M., Torres, V., (2004). Caracterización físico-química de la fracción fibrosa de cinco harinas de follajes tropicales para especies

- monogástricas. Revista Cubana de Ciencia Agrícola, Tomo 38, No 3, ICA, Cuba, 291-296 pp.
- Schneeman, B & Gallahert, D, (1985). Effects of Dietary Fiber on Digestive Enzyme Activity and Bile Acids in the Small Intestine. Department of nutrition, university of california, U.S.A proceedings of the society for experimental biology and medicine 180,409-414
- Schneider, B., & Flatt. W., (1975). The Evaluation of Feeds Through Digestibility Experiments. Universidad de Wisconsin – Madison. Edition. University of Georgia Press. USA. pp 423
- Scott, M., Nesheim, M., Young, R., (1969). La nutrición de las aves. Ithaca, Nueva York. pp. 483
- Segui, A., (2020), INRA y nosotros, Crónica personal desde lo profesional, Grup de remugants, Barcelona España, pp 7
- Segura, F., Echeverri, R., Patiño, A., & Mejía, A. (2007). Description and discussion about the methods of analysis of fiber and of the nutritional value of forages and foods for animals. Revista de la facultad de química farmacéutica. Volumen 14 número 1, año 2007. Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia. págs. 72-81
- Seker, E. (2002). The determination of the energy values of some ruminant feeds by using digestibility trial and gas test. Rev. Med. Vet. Feedipedia 153(5):323-328.
- Serna, L., & López, S., (2010). Actualización del manual del laboratorio de análisis de alimentos del programa de tecnología química de la universidad tecnológica de Pereira. Trabajo de Grado. Escuela de Química. Facultad de Tecnología. Universidad Tecnológica de Pereira. Colombia. pp 178
- Shenk, J., Westerhaus, M., Hoover, R., (1979). Analysis of Forages by Infrared Reflectance. Journal Series of the Pennsylvania Agricultural Experiment Station. Presented at the joint regional meeting of the American Dairy Science Association and American Society of Animal Science. USDA. pp 807-812
- Shimada, A., (2007). Nutrición Animal. Libro. Editorial Trillas S.A. Impreso en México. México. pp 196
- Sobalvarro, J., Elizondo, J., Rojas, A., (2020). La producción de gas in vitro para estimar la energía neta de lactancia. Universidad de Costa Rica. Volumen 31(2). pp 311-328
- Stein, H., Fuller, M., Moughan, P., Séve, B., Mosenthin, R., Jansman, A., Fernández,

- J., Lange, C., (2007). Definition of apparent, true, and standardized ileal digestibility of amino acids in pigs. Short communication. Livestock Science. Elsevier 109. pp 282–285
- Stern, M. D., Bach, A. Y Calsamiglia, S. (1997). Alternative techniques for measuring nutrient digestion in ruminants. J. Anim. Sci., 75: 2256-2276. Department of Animal Science, University of Minnesota, St. Paul 55108
- Stritzler, N., Rabotnikof, C., (2019). Nutrición y alimentación de rumiantes en la región Semiárida Central Argentina. Santa Rosa. La Pampa. Argentina. Libro de texto para estudiantes universitarios. pp 158
- Stuart, J.R., Herrera, S.R., González, R., (2003). Clasificación de los alimentos, Revista Cubana de Producción animal. Instituto de Ciencia Animal (I.C.A.). Mayabeque, Cuba, pp 27
- Sudweeks, E.M., McCullough. M. E. Sisk.,L. R., & Law, S. E., (1975). Effects of concentrate type and level and forage type on chewing time of steers. University of Georgia College of Agriculture Experiment Stations. U.S.A., Journal of Animal Science, vol. 41, no. 1,. pp 6
- Tacón, A., (1989). Nutrición y alimentación de peces y camarones cultivados manual de capacitación. Programa Cooperativo Gubernamental FAO-Italia Proyecto Aquila II documento de campo. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación. Brasilia, Brasil
- Taminga, S., Brandsma, G., Dijkstra, J., Duinkerken, G., Vuuren, A., Blok, M., (2009). protein evaluation for ruminants: the dve/oeb 2007 system. CVB-Documentation Report nr. 53, Product Board Animal Feed. Netherlands
- Taylor, C.S., R.B. Theissen, and J.Murray. 1986. Inter-breed relationship of maintenance efficiency to milk yield in cattle. Anim. Prod. 43:37–61.
- Tejada, I., Berruecos, J., Merino, H., (1976). Análisis bromatológico de alimentos empleados como ingredientes en nutrición animal. Departamento de Nutrición Animal y Bioquímica, Inst. Nal. de Invest. Pecs. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, UNAM. pp 31-33
- Tekola, B., 2011. Quality assurance for animal feed analysis laboratories. Animal Production and Health. Manual FAO. Roma. pp 193
- Theodorou M., Williams, B., Dhanoa, M., McAllan, A., France, J., (1994). A simple gas production method using a pressure transducer to determine the fermentation kinetics of ruminant feeds. Animal Feed Science and Technology 48.

- ELSEVIER. pp 185-197
- Theodorou, M., & France, J. (2007). Feeding systems and feed evaluation models. Library of congress Cataloging-in-Publication Data. Londres. Reino Unido ISBN 0-85199-346-X CABI.
- Thomas, C., & Chamberlain, D., (2013). Evaluation and prediction of the nutritive value of pastures and forages. West of the Scotland College Auchincruive, Ayr, U.K. Hannah research institute pp 517
- Tilley, J. M. A. & Terry, R. A. (1963): A two stage technique for the in vitro digestion of forage crops. Journal of the British Grassland Society, 18: 104-111.
- Tisch, D. (2006). Animal feeds, feeding and nutrition and ration evaluation. Delmar, Printed in the United States Of America. Book, pp-491
- Tobal, C. F., (2020). Evaluación de los alimentos a través de los diferentes métodos de digestibilidad. Facultad De Ciencias Veterinarias. La Pampa. Argentina. pp 33
- Torres, G., Arbaiza, T., Carcelén, F., & Lucas, O. (2009). Comparación de las técnicas in situ, in vitro y enzimática (celulosa) para estimar la digestibilidad de forrajes en ovinos. Revista de Investigaciones Veterinarias Del Perú, 20(1). <https://doi.org/10.15381/rivep.v20i1.348>
- Tybirk, P. (2004). El sistema danés de valoración de alimentos, National Committee for Pig production Danish Agricultural Advisory Centre, Aarhus Barcelona, España, FEDNA pp 51–59.
- Tyler, C. (1975, January). Albrecht Thaer's hay equivalents: fact or fiction?. In Nutrition Abstracts and Reviews (Vol. 45, No. 1, pp. 1-11).
- Uden, P., Robinson, P., Wiseman, J., (2005). Use of detergent system terminology and criteria for submission of manuscripts on new, or revised, analytical methods as well as descriptive information on feed analysis and/or variability. Editorial Elsevier. Animal Feed Science and Technology. pp 181–186
- Undersander, D., Cosgrove, D., Cullen, E., Grau, C., Rice, M., Renz, M., Sheaffer, C., Shewmaker, G., & Suic, M., (2011). Alfalfa management guide. American Society of Agronomy. Printed in USA. pp 68
- Valenciaga, D., & Simoes, E., (2006). La espectroscopia de reflectancia en el infrarrojo cercano (NIRS) y sus potencialidades para la evaluación de forrajes. Revista Cubana de Ciencia Agrícola. Instituto de Ciencia Animal. Cuba. pp 10
- Van der Honing. & Steg, A., (2013). Comparison of energy evaluation system of

- feeds for ruminants. In: Feed Evaluation. Ed. J. Wiseman & D.J.A. Cole Buitterworths, Cambridge, U.K. pp 517
- Van Es, A., & Van Der Meer, J., (1980). Methods of analysis for predicting the energy and protein value of feeds for farm animals. 31 st Annual Meeting of the European Association for Animal Production. Munich, Federal Republic of Germany. pp 1-128
- Van Es, A., (1977). Feed evaluation for ruminants. The systems in use from May 1977-onwards in the Netherlands. Instituut voor Veevoedingsonderzoek "Hoorn", Lelystad (The Netherlands). Elsevier Scientific Publishing Company, Amsterdam -- Printed in The Netherlands. pp 331-345
- Van Soest P. & Wine, R., (1967). Use of Detergents in the Analysis of Fibrous Feeds. IV. Determination of Plant Cell-Wall Constituents. Journal of the Journal of the Association of Official Analytical Chemists, Volume 50 (1): pp 50 – 55.
- Van Soest, P. (1992). Fiber in the Diets of Animals and Man. Department of Animal Science and Division of Nutritional Sciences Cornell University Ithaca, NY. USA. pp 1
- Van Soest, P. J., Mertens, D. R. Y Deinum, B., (1978): Preharvest factors influencing the voluntary feed intake of forages. J. Anim. Sci., 47: 712-721.
- Van Soest, P., Robertson, J., Hall, M., Barry, M., (2020). Klason lignin is a nutritionally heterogeneous fraction unsuitable for prediction of forage neutral detergent fibre digestibility in ruminants. Department of Animal Science, Morrison Hall, Cornell University, Ithaca, NY. USDA-ARS, U.S.A. pp 22
- Van Soest, P.J., (1967). Development of a comprehensive system of feed analyses and its application to forages. Journal of Animal Science, Volume 26(1): 119 – 128.
- Van Soest, PJ y Robertson, JB (1985): Analysis of forages and fibrous foods. A Laboratory Manual for Animal Science 613. Report of Research of the Cornell University Agricultural Experiment Station. Universidad de Cornell, Ithaca, Nueva York.
- Van Soest, P.J., Wine, R.H., Moore L.A., (1966): Estimation of the true digestibility of forages by the in vitro digestion of cell walls. Proc. 10th Int. Grasslands Congress. Helsinki. Finnish Grassland Association. 1966; 438-441.
- Van Soest. P., (1962) The estimation of forage protein digestibility and determination of the effects of heat-drying upon forages by means of the nitrogen content of acid-detergent fiber. In: Abstracts of papers to be presented at the Fifty-Seventh

- Annual Meeting of the American Dairy Science Association, University of Maryland,. Journal of Dairy Science, USA Volume 45:664.
- Van Soest., P., Robertson, J., Lewis, B., (1991) Symposium: Carbohydrate Methodology, Metabolism and Nutritional Implications in Dairy Cattle. Methods for Dietary Fiber, Neutral Detergent fiber, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. Cornell University Department of Animal Science and Division of Nutritional Sciences Ithaca, NY. USA. Pp 3583-3597
- Van Straalen, W., & Tamminga, S., (2013). Protein degradation of ruminants diet. Institute for livestock Feeding and Nutritional Research. Lelystad. The Netherlands; and department of Animal Nutrition. Agricultural University. Wageningen. The Netherlands. pp 517
- Vargas, J. (2016). Calidad de los forrajes para rumiantes. Entorno Ganadero 78, BM Editores. Universidad Autónoma Metropolitana. Sitio Argentino de producción animal Argentina, pp 3
- Vásquez, D., Abadía, B., Arreaza, L., (2004). Aplicación de la Espectroscopia de Reflectancia en el Infrarrojo Cercano (NIRS) para la caracterización nutricional del pasto Guinea y del grano de maíz. Artículo técnico. Revista Corpoica. Vol. 5 No 1. pp 7
- Vega, M. (2009). Digestibilidad aparente y tiempo de pasaje con óxido de cromo CR₂O₃ como marcador en un grupo de tití gris (*Saguinus leucopus*) en cautiverio. Universidad de La Salle. Facultad de CCencias Agropecuarias, 1–62.
- Villanueva, M., (2024). Producción de gas y ácidos grasos volátiles de alimentos incubados in vitro con líquido ruminal de bovinos con diferente consumo residual de alimento. Tesis para obtener el grado de maestría en ciencia animal. Universidad Autónoma de Nuevo León. México. pp 84
- Vinagre, J., (1997). Diseños de protocolos de muestreo. Organización de las naciones unidas para la agricultura y la alimentación. FAO. Capítulo 13. Universidad de Santiago Chile. Chile.
- Vohra, P. (1972) Evaluation of metabolizable energy for poultry. World's Poultry Science Journal. University of California USA. pp 204-214
- Wattiaux. (2007). Composición y análisis de alimentos, Capítulo 2 Nutrición y Alimentación, Instituto Babcock, Universidad de Wisconsin U.S.A., 5 pp
- Wawrzekiewicz, M. & Danelón, J. L., (2004). Mejoramiento de la técnica de

- producción de gas in vitro para evaluar alimentos para rumiantes. Nuevo recipiente de incubación. Departamento Producción Animal. Facultad de Agronomía. Universidad de Buenos Aires (FAUBA), Argentina, 11 pp
- Weisbjergt, M., & Hvelplund, T., (2005). Energy and protein evaluation of conventional and nonconventional feedstuffs. Possibilities and pitfalls. Danish Institute of Agricultural Sciences Research Centre Foulum, Tjele, Denmark. pp 307-317
- Weiss, W., (1992). Symposium: prevailing concepts in energy utilization by ruminants. Predicting Energy Values of Feeds. Department of Dairy Science. Ohio Agricultural Research and Development Center. The Ohio State University. U.S.A. pp 1802-1811
- Wiseman, J., & Cole, D. J. A (1990). Feedstuff Evaluation. The University Press. Cambridge. Great Britain. ISBN 0-408-04971-5. 456 pp
- Yang, W. Z. & Beauchemin, K. A., (2007). Altering Physically Effective Fiber Intake Through Forage Proportion and Particle Length: Chewing and Ruminal pH. American Dairy Science Association. Agriculture and Agri-Food Canada, Research Centre. Lethbridge, Alberta, T1J 4B1, Canada. J. Dairy Sci. 90:2826–2838
- Yukihiro, O., McClure, W., Christy A., (2007). Near-Infrared Spectroscopy in food science and technology. Published by John Wiley & Sons, Inc., Hoboken, New Jersey. USA. pp 30
- Zambrano A., (2009). Formulación de alimentos balanceados para pollos de engorde, bajo el concepto de aminoácidos digestibles. Molinos Champion. Ecuador. pp 19
- Zewdie, A., (2018) The Different Methods of Measuring Feed Digestibility: A Review. Department of Animal Sciences, College of Agriculture and Natural Sciences, Debre Markos University, Ethiopia. EC NUTRITION. pp 1-7
- Zumbado, H., (2004). Análisis Químico de los Alimentos. Métodos Clásicos. Instituto de Farmacia y Alimentos. Universidad de La Habana

DE LOS AUTORES

Hernan Patricio Guevara Costales



Ingeniero Zootecnista graduado en la **Escuela Superior Politécnica de Chimborazo (ESPOCH)**, con especialización en **Valoración de Alimentos para Animales** por la **Universidad de Gante, Bélgica** y un **Máster en Producción Animal** con énfasis en **Nutrición y Alimentación Animal**.

Como **Autor de esta obra**, refleja en cada capítulo su experiencia y conocimientos sobre la nutrición animal y la valoración de alimentos, aportando una visión técnica y práctica para el sector pecuario.

Ha ejercido como **Profesor Titular en la Facultad de Ciencias Pecuarias de la ESPOCH**, donde impartió cátedras en **Nutrición Animal, Valoración de Alimentos para Animales y Alimentación de Poligástricos**, contribuyendo a la formación de profesionales en el campo.

En el ámbito investigativo, lideró **proyectos nacionales e internacionales** centrados en la optimización de ingredientes para piensos. Además, fue **Docente de Maestría** en diversas universidades del país, fortaleciendo la educación en nutrición animal.

Su experiencia también incluye la dirección de la **Planta de Balanceados de la ESPOCH** y el rol de **Asesor en Formulación de Alimentos Balanceados** para empresas privadas en Ecuador, optimizando la producción y calidad de los alimentos para animales.

En reconocimiento a su destacada trayectoria y aportes a la ciencia, fue galardonado como **Científico del Año 2009**, en su ciudad natal, un prestigioso premio otorgado únicamente a los profesionales más sobresalientes del país, reafirmando su compromiso y excelencia en el ámbito de la producción animal.

Su trayectoria **académica, investigativa e industrial**, junto con su compromiso como autor, lo consolidan como un referente en la producción pecuaria, impulsando prácticas sostenibles y eficientes en el sector.

Danny Patricio Guevara Noboa



Ingeniero Zootecnista graduado en la **Escuela Superior Politécnica de Chimborazo (ESPOCH)**, en la **Facultad de Ciencias Pecuarias de la Escuela de Ingeniería Zootécnica**. Posee un **Máster en Producción y Nutrición Animal** por la **Escuela Superior del Ejército (ESPE)** y un **Máster en Acuicultura otorgado por la Pontificia Universidad Católica de Guayaquil (PUCE)**.

A lo largo de su destacada trayectoria profesional, ha formado parte de algunas de las empresas más grandes de Ecuador y de multinacionales de renombre mundial en el ámbito de la **Nutrición Animal**, entre las que se destacan: **BIOMAR, NUTRIL, ALLTECH, CARGILL, PRONACA y EXIBAL**. Su experiencia en estas organizaciones líderes refleja un alto nivel de conocimiento y capacidad para desarrollar estrategias nutricionales de impacto global.

Además, ha sido **Profesor Universitario de Postgrado en la Escuela Superior del Ejército (ESPE)**, donde compartió sus conocimientos en **Nutrición y Producción Animal**, formando a nuevos profesionales en el sector pecuario.

También se ha desempeñado como Asesor Externo en Nutrición Animal, desarrollando estrategias nutricionales para la optimización de la producción en distintas empresas del sector.

Su experiencia académica e industrial lo posiciona como un referente en el ámbito de la producción y nutrición animal, destacándose por su compromiso con la innovación y la mejora continua en la industria pecuaria.

Sandra Elizabeth Lopez Sampedro



Bioquímica Farmacéutica graduada de la **Escuela Superior Politécnica de Chimborazo (ESPOCH)**. Posee un **Máster en Agroindustria** con mención en **Tecnología de los Alimentos** por la **Universidad Técnica de Cotopaxi** y un **Máster en Farmacia Clínica y Hospitalaria** por la **Universidad Uniandes** fortaleciendo sus conocimientos en el ámbito de la ciencia alimentaria y su aplicación en productos de consumo humano y animal.

Actualmente, es **Docente en la Facultad de Ciencias Pecuarias de la ESPOCH** y forma parte del Grupo de **Investigación GIDIPA-ESPOCH**, donde contribuye al desarrollo de estudios enfocados en nutrición y tecnología de alimentos.

Ha sido Investigadora en múltiples Proyectos Institucionales finalizados, generando conocimiento en el campo de la alimentación y la salud. Además, es **Coautora de diversas publicaciones científicas en revistas Regionales y SCOPUS**, destacando por sus estudios sobre fuentes vegetales para uso industrial, explorando alternativas innovadoras para la producción de alimentos destinados al consumo humano y animal, con el objetivo de potenciar sus propiedades funcionales y características nutricionales.

Su compromiso con la investigación y la educación superior la posiciona como un referente en el desarrollo de soluciones sostenibles e innovadoras en el sector alimentario.

Johan De Boever



Johan De Boever originario de Melle, Bélgica, es **Ingeniero Agrónomo y Doctor en Ciencias Agrícolas** por la **Universidad de Gante**. Su trayectoria profesional se desarrolló en la **Unidad de Ciencias Animales del ILVO (Instituto de Investigación de Agricultura, Pesca y Alimentación de Flandes)**, donde se especializó en la **evaluación de alimentos para rumiantes, cerdos y aves de corral**.

A lo largo de su carrera, participó en un **proyecto colaborativo con la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo (ESPOCH)** en Ecuador, enfocado en la evaluación de ingredientes para piensos y la acreditación de **ILVO–Animalab** bajo la norma **ISO 17025**.

Además, integró el **Consejo Editorial Asesor** de la revista **Animal Feed Science and Technology**, y del **Consejo de la Asociación Europea de Ciencia Animal (EAAP)**, donde ocupó un puesto directivo.

A lo largo de su trayectoria académica y científica, ha publicado más de **125 artículos en revistas indexadas de alto impacto**, destacándose en áreas como:

- **Evaluación de la digestibilidad de nutrientes en rumiantes.**
- **Fermentación y degradabilidad de alimentos en el rumen de vacas.**
- **Digestibilidad in vitro mediante fluido ruminal o enzimas.**
- **Producción de gas in vitro para medir la calidad nutricional de los alimentos.**
- **Evaluación de alimentos mediante NIRS (Espectroscopia de Infrarrojo Cercano).**
- **Calidad del ensilado y análisis de su estructura física.**

ANEXOS

Determinación de la disponibilidad del pasto

Método de Haydock y Shaw.

Descripción del método.

El conocimiento de la disponibilidad del pasto resulta esencial para poder establecer un programa de racionamiento a los animales, a partir de este alimento voluminoso. Existen diferentes procedimientos para la determinación de la disponibilidad. El que aquí se presenta, es el desarrollado por Haydock y Shaw (1976), se clasifica entre los métodos no destructivos, y está basado en la observación de un cierto número de puntos, y su comparación visual con otros que sirven de referencia.

Principios en que se basa el método descrito.

El procedimiento se denomina “no destructivo”, debido a que solamente se corta una pequeña proporción del pasto, en total 1,25 m², en un cuartón de, digamos, una ha. La pérdida de precisión que ocurriría al tomar una muestra total tan pequeña se contrarresta con la realización de un gran número de observaciones visuales. Luego del necesario entrenamiento de los muestreadores, con este procedimiento se alcanzan resultados tan buenos como los que se obtienen cuando se corta un gran número de muestras en el pastizal

Los recursos necesarios son los siguientes:

- Cinco varillas de madera u otro material, de entre 1,5 y 2 metros de longitud, con una de su punta afilada, para poderlas introducir en la tierra. En la parte superior de cada varilla se colocará una pequeña pancarta de cartón u otro material, en la que se escribirá un número de orden, del 1 al 5. Pueden utilizarse otros materiales y formas de señalización, según la iniciativa del usuario.
- Un marco cuadrado, con una superficie interior de 0,25 m² (0,5 m de lado). Puede ser de madera o metal, con la condición de que sea liviano, para facilitar su manipulación.
- Un cuchillo afilado, para el corte de las muestras del pasto.

- Cinco bolsas de plástico numeradas del 1 al 5, y con capacidad cada una para muestras de hasta 200 g de pasto fresco.
- Una balanza técnica, con capacidad para muestras de hasta 300 g. (el pasto más la tara de las bolsas).
- Una hoja de trabajo, con las características que más adelante se explicarán, con un ejemplo de muestreo.
- Una tablilla para apoyar y facilitar las anotaciones en el campo.
- Una calculadora de bolsillo.
- Un lápiz, pluma o bolígrafo, según preferencia del usuario.

Personal necesario para el muestreo.

Se necesitan dos personas para el muestreo, una para que haga las observaciones y otra para que tome notas.

Horario idóneo para el muestreo.

La composición de las plantas cambia a lo largo del día, debido a dos procesos opuestos, la fotosíntesis, que genera carbohidratos solubles y la respiración, que los consume. A partir de ese hecho, los muestreos se deberán hacer siempre a la misma hora, para reducir el error relacionado con la hora del muestreo. Se propone comenzar a las 10 de la mañana, momento en que se ha secado ya el rocío que cubre las hojas y que falsearía los pesajes y los contenidos de materia seca de las muestras cortadas.

Criterios que seguir para la organización del terreno.

Se utilizará el denominado “muestreo sistemático”, el cual consiste en dividir el cuartón en franjas de aproximadamente igual tamaño, en las que se hará el mismo número de observaciones. El objetivo de este tipo de muestreo es asegurar la distribución de las muestras por todo el campo, lo cual sería difícil de lograr, cuando se trata de superficies muy grandes. Para cuartones de aproximadamente, una ha, se propone dividir el mismo en cinco franjas, y hacer 20 observaciones por franja, para un total de 100 por ha. Para cuartones o potreros mucho mayores de una ha, es preferible subdividirlos y realizar varios muestreos independientes.

Criterio para seleccionar los lugares en donde se harán las observaciones.

Una vez confeccionado el esquema de distribución de las observaciones, se debe establecer la forma en que se seleccionarán los puntos de observación. El procedimiento que se recomienda, es seleccionar al azar un punto para el comienzo y caminar en zig –

zag, hasta dar el número de pasos previamente establecido, para llegar al próximo punto de observación.

a) Selección de los puntos de referencia.

Para seleccionar los puntos de referencia, primeramente, el muestreador deberá recorrer el campo, para familiarizarse con el mismo y apreciar las características de la vegetación. A continuación, seleccionará un punto del pastizal, el cual sea representativo de las zonas con máxima disponibilidad. En este punto se colocará la varilla con el número 5.

A continuación, seleccionará un punto representativo de los lugares con mínima disponibilidad. En ese punto colocará la varilla con el número 1.

Una vez identificados los puntos representativos de la máxima y la mínima disponibilidad, se identificará un punto en el cual la disponibilidad sea equidistante de los ya encontrados. En este punto se colocará la varilla No. 3.

De la misma manera, se seleccionará un punto con disponibilidad entre 1 y 3, en donde se pondrá la varilla No. 2 y otro con disponibilidad media entre 3 y 5, en donde se pondrá la varilla No. 4.

Una vez ubicados los cinco puntos de referencia, se pasará a realizar las observaciones correspondientes al muestreo.

Es conveniente aclarar que el punto representativo de la mínima disponibilidad **no es un lugar en donde no haya pasto**, ya que ese es el punto extremo de la media de los lugares con baja disponibilidad. De la misma manera, el punto 5 estará ubicado en un lugar cuya disponibilidad estará ligeramente por debajo de las zonas del pastizal en donde la disponibilidad sea máxima.

Organización del muestreo.

Supongamos que, durante la organización del muestreo, se ha dividido el campo en cinco secciones, en cada una de las cuales, se deberán hacer 20 observaciones. Cada observación se deberá hacer, digamos, cada 30 pasos. El muestreador seleccionará el punto de inicio y comenzará con los primeros 30 pasos. Al detenerse, juntará sus pies, y observará la disponibilidad del pasto en ese entorno. A continuación, comparará mentalmente la disponibilidad observada, con la que existe en los diferentes puntos de referencia, y seleccionará el número de aquél al que más se aproxime. Supongamos que la disponibilidad se asemeja a la que hay en el punto de referencia No. 4. Entonces le dirá al anotador que haga una marca en la columna No. 4 de la hoja de trabajo.

Una vez hecha la primera observación, el muestreador caminará los pasos pre-establecidos y hará la segunda observación. Supongamos que el lugar se asemeja al correspondiente a la varilla 2. Entonces, transmitirá esa información al anotador, el cual realizará una marca en la columna 2. Cada vez que sea necesario, el muestreador puede visitar nuevamente los puntos de referencia para actualizar la imagen que tiene respecto a la disponibilidad en el entorno de estos.

Una vez completadas las observaciones, el anotador sumará las marcas que hay en cada columna y el resultado lo colocará en la parte inferior de cada una de ellas. Para comprobación, sumará los resultados de las cinco columnas. Dicha suma será deberá ser igual al total de observaciones realizadas por el muestreador.

Corte y envasado de las muestras de referencia.

El próximo paso para dar, consiste en realizar el corte de las muestras de referencia. Para ese fin, deberá una varilla (cualquiera de las cinco), colocar el marco de manera que su centro coincida con el lugar en donde estaba enterrada la punta de la varilla. A continuación, con el auxilio del cuchillo, cortará toda la hierba que se encuentre en el interior del marco. El corte se realizará a la altura prevista, en lo cual se deberá ser cuidadoso. Inmediatamente después de cortado, el pasto se colocará en el interior de la bolsa plástica identificada con el mismo número de la varilla, y se sellará herméticamente. Se procederá de la misma forma, hasta completar el corte del pasto correspondiente a los cinco puntos de referencia.

Pesaje de las muestras frescas.

Luego de cortadas las muestras, y lo más rápido que sea posible, se pesarán las bolsas. Es conveniente tener previamente la tara de cada una de ellas, para calcular de la manera más rápida y sencilla posible el peso de las muestras del pasto. Una forma habitual de realizar esta operación consiste en colocar a cada bolsa una etiqueta, con el número que le corresponda y su tara. El peso del contenido de cada bolsa se colocará en el lugar destinado para esa función, en la hoja de trabajo.

Secado de las muestras.

Luego de pesadas las bolsas, su contenido se llevará inmediatamente a una estufa, regulada a la temperatura de 60 grados Celsius, y permanecerán en la misma durante 48 a 72 horas, o hasta peso constante. Se pesarán nuevamente y el resultado se colocará también en el espacio correspondiente en la hoja de trabajo. Se calculará el porcentaje de materia seca y también se anotará en la hoja.

Procedimiento de cálculo.

Antes de describir el procedimiento de cálculo, regresemos al momento anterior a la realización de la primera observación visual. Hemos dado el número de pasos pre-establecidos y nos hemos detenido a observar el pasto. Si en ese momento, colocamos el marco en ese lugar, antes de hacer la comparación con alguno de los puntos de referencia, el resultado habría sido igual al que hemos encontrado sin colocar el marco. Por tanto, hemos omitido (por comodidad), la colocación de este, aunque, a los efectos del muestreo, la observación que realizamos, la contabilizamos como el pasto que existe en una pequeña superficie de $0,25 \text{ m}^2$, es decir, del tamaño del marco. Hecha esta aclaración, comencemos con la descripción del procedimiento de cálculo.

Ajuste del peso estimado de las muestras observadas.

Al seleccionar los puntos de referencia según una escala del 1 al 5, hemos supuesto el peso de las muestras correspondientes a los cinco puntos están sobre una línea recta, (crecen de manera lineal del 1 al 5), lo cual, en la práctica, no siempre ocurre. Por tanto, se deberá calcular la línea de regresión que mejor se ajusta al peso de las muestras pertenecientes a los cinco puntos de referencia, y utilizarla luego para estimar el peso correspondiente a las observaciones realizadas. La operación consiste, en esencia, en calcular una línea de regresión con el número del punto de referencia como variable independiente y el peso fresco de la muestra correspondiente a dicho punto como variable dependiente. Una vez obtenida dicha regresión se utiliza la misma para estimar el valor de Y (peso de la muestra observada), para cada X (punto de referencia). Se colocará en la hoja de trabajo el valor estimado de esa forma. Además, a partir del porcentaje de materia seca de la muestra de referencia, se calculará el peso seco de la muestra observada. Ese resultado también se anotará en la hoja de trabajo.

Completamiento de los datos de la tabla.

- a. **Observaciones por puntos de referencia.** En la tabla tenemos anotados las observaciones correspondientes a cada punto, según las distintas franjas. Estas no son más que un artificio para garantizar la homogeneidad del trabajo. Por tanto, sumamos las observaciones pertenecientes a cada punto de referencia (es decir, cada columna), y colocamos en la parte inferior el total correspondiente. Tendremos por tanto en la parte inferior de la tabla, el número total de observaciones equiparables a cada punto de referencia.
- b. **Proporción de observaciones por punto de referencia respecto al total.** Este cálculo se realiza dividiendo el número de observaciones por punto de referencia entre el total de observaciones.

Estimación del peso fresco de una muestra representativa de 0,25 m² de todo el pastizal. Para este cálculo se multiplica la proporción de observaciones (datos de la última fila de la tabla 1) por el peso fresco estimado según regresión para las observaciones por punto de muestreo (Penúltima fila de la tabla 2) y el resultado se suma. Por ejemplo, si son P₁, P₂, P₃, P₄ y P₅ las proporciones y M₁, M₂, M₃, M₄ y M₅ los pesos estimados correspondientes, el peso fresco de dicha muestra representativa M_R, será:

$$M_R = P_1 * M_1 + P_2 * M_2 + P_3 * M_3 + P_4 * M_4 + P_5 * M_5$$

Estimación del peso seco de una muestra representativa de 0,25 m² de todo el pastizal. Se procede de igual forma que en el punto anterior, pero se utilizan los datos de la última fila de la tabla 2. Si, como anteriormente, P₁, P₂, P₃, P₄ y P₅ son las proporciones, y S₁, S₂, S₃, S₄, y S₅ son los pesos secos estimados para las observaciones, el peso seco de dicha muestra representativa S_R, será:

$$S_R = P_1 * S_1 + P_2 * S_2 + P_3 * S_3 + P_4 * S_4 + P_5 * S_5.$$

Determinación de la disponibilidad del pastizal, en t/ha. Este cálculo se realizará mediante una simple regla de tres, para lo cual se debe recordar que 0,25m² equivalen a 0,000025 has, y que un gramo equivale a 0,000001 t. Si la muestra pesa A gramos, eso equivaldrá por tanto a 0.000001*A toneladas. Supongamos que la muestra pesa 100 gramos. Tendremos:

$$\begin{array}{lcl} 0,000025 \text{ has} & \text{---} & 0,0001 \text{ t} \\ 1 \text{ ha} & \text{-----} & X \text{ toneladas.} \end{array}$$

$$X = 1 * 0,0001 / 0,000025$$

$$X = 4 \text{ t/ha.}$$

En la práctica, todo se reduce a multiplicar el peso de la muestra en gramos por 0,04. Así, si el peso de la muestra es 100g, la disponibilidad del pasto será:

$$100 * 0,04 = 4 \text{ t/ha.}$$

El procedimiento será el mismo para la determinación de la disponibilidad del pasto en base seca.

Determinación de la disponibilidad del pastizal en el cuartón. Este resultado se obtiene mediante multiplicación de la disponibilidad, en t/ha por la superficie del cuartón, en has. Así, si el cuartón tiene 0,6 has, y la disponibilidad es de 4 t/ha, la disponibilidad por cuartón será:

$$\text{Disp/cuartón} = 0,6 * 4,$$

$$\text{Disp/cuartón} = 2,4 \text{ t de pasto fresco.}$$

Con estos últimos cálculos concluye la determinación de la disponibilidad. En ciertos casos, puede ser conveniente realizar determinaciones adicionales, como, por ejemplo, determinar la relación hoja: tallo, la disponibilidad de hojas, etc. Para estas determinaciones, se fraccionan las muestras tomadas en los puntos de referencia y se calcula el contenido, o la proporción del componente a analizar. A continuación, los pasos son similares a los descritos hasta aquí.

Determinación de la disponibilidad del pasto

Hoja de trabajo.

Fecha:

Datos descriptivos del muestreo

Tabla 1. Anotaciones a realizar para el muestreo.

Franjas	Observaciones realizadas					Totales
	Punto 1	Punto 2	Punto 3	Punto 4	Punto 5	
Franja 1						
Franja 2						
Franja 3						
Franja 4						
Franja 5						
Totales						
Proporciones						

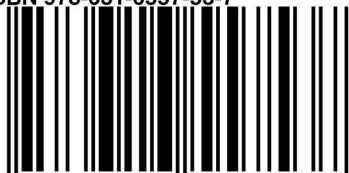
Tabla 2. Pesaje de las muestras y estimación del peso de las muestras observadas.

Indicadores	Puntos de muestreo				
	1	2	3	4	5
Peso fresco M. referencia					
Peso seco M. referencia					
% MS M referencia					
Peso ajuste por regresión					
Peso seco observación					



PUERTO MADERO
EDITORIAL

ISBN 978-631-6557-53-7



9 786316 557537