

## HERRAMIENTAS PARA LA EVALUACIÓN DE ALIMENTOS PARA RUMIANTES

Gustavo Jaurena\*; María Gabriela Fernández Pepi; Marisa Wawrzkievicz

Universidad de Buenos Aires, Facultad de Agronomía, Departamento de Producción Animal, Cátedra de Nutrición Animal,

\*E-mail: gjaurena@agro.uba.ar

Recibido: 20/12/2022  
Aceptado: 12/06/2023

### RESUMEN

La evaluación de alimentos es un aspecto crítico para la gestión de los sistemas de producción animal que involucra el control de características químicas, físicas, microbiológicas, organolépticas y nutricionales. Las herramientas disponibles hoy día son diversas y en muchas ocasiones no se consideran las bondades y limitaciones de cada una de las técnicas, o la complementariedad entre ellas en beneficio de la finalidad del estudio. El objetivo de este trabajo es discutir, para los no especialistas en nutrición, los principales métodos disponibles para evaluar la calidad de los alimentos para rumiantes, con énfasis en sus alcances, limitaciones y potencial complementación entre técnicas. Para ello, se analizaron aspectos de la evaluación de alimentos: (i) sus objetivos, (ii) los puntos críticos de las etapas de muestreo y del acondicionamiento de las muestras y (iii) los principales aportes a obtener a partir de los controles sensoriales, físicos, microscópicos, químicos y nutricionales. Los indicadores objetivos de la calidad de los alimentos (*i.e.* físicos, químicos, nutricionales) son críticos para el control de calidad, presupuestación, control y formulación de raciones constituyendo una herramienta clave para la gestión de sistemas de producción animal.

**Palabras clave:** ingredientes, forrajes, química, microscopía, microhistología.

## TOOLS FOR THE EVALUATION OF FEED QUALITY FOR RUMINANTS

### ABSTRACT

Feed evaluation is a critical aspect for the management of animal production systems that involves the control of chemical, physical, microbiological, organoleptic and nutritional characteristics. The tools available today are diverse and on many occasions the benefits and limitations of the techniques or the complementarity among them in benefit of the study goals are not duly considered. The objective of this article is to discuss, for non-specialists in animal nutrition, the main available methods to assess the quality of feed for ruminants, with emphasis on their scope, limitations and potential complementation between techniques. Throughout the work, the objectives of food evaluation, critical points of sampling and sample conditioning, and the main contributions to be obtained from sensory, physical, microscopic, chemical and nutritional controls were analyzed. The objective indicators of food quality (*i.e.* physical, chemical, nutritional) are critical for quality control, budgeting, control and formulation of rations, constituting a key tool for the management of animal production systems.

**Key words:** ingredients, forages, chemistry, microscopy, microhistology.

## INTRODUCCIÓN

La alimentación balanceada impacta sobre la productividad, la salud, y el bienestar de los animales, con consecuencias sobre la sustentabilidad y rentabilidad de los sistemas de producción. El suministro de dietas ajustadas a los requerimientos animales mejora la eficiencia en el uso de alimentos y nutrientes, aumentando la productividad y reduciendo las descargas de sustancias al ambiente (*i.e.* nitrógeno, fósforo). Por ello, para satisfacer las necesidades nutricionales, es necesario contar con un sistema objetivo, preciso, confiable, y fundamentalmente que resulte útil para describir la calidad de los alimentos. El concepto de valor nutritivo (VN) suele utilizarse para orientar los indicadores de valoración y se define por su relación con la respuesta animal, resultando de la interacción entre el consumo, la digestibilidad y la eficiencia del uso de la energía de la dieta (Van Soest, 1994).

Existe una amplia variedad de métodos para evaluar alimentos abarcando características organolépticas (*i.e.* olor, color, sabor, textura), microbiológicas, físicas, químicas, y nutricionales, y hay un creciente interés en desarrollar sistemas automáticos de monitoreo que recolecten información sobre la producción y salud de los animales, y el suministro y calidad de los alimentos. Consecuentemente, la cantidad y variedad de opciones puede resultar abrumadora y confusa, y en muchas oportunidades se falla en seleccionar las determinaciones más apropiadas para las condiciones y objetivos particulares, resultando en desperdicios de tiempo y recursos.

El propósito de este artículo es ofrecer, para los no especialistas en nutrición, una descripción sencilla de los principales métodos que permiten evaluar la calidad de los alimentos para rumiantes, con énfasis en las propiedades físicas, químicas y nutricionales, destacando sus alcances, limitaciones y potencial complementación. Entre las dimensiones a evaluar, el control de los aportes minerales, y la presencia de compuestos antinutricionales, pese a su importancia, no serán abordados aquí. Asimismo, la caracterización de las propiedades físicas de los alimentos peletizados (*i.e.* dureza, porcentaje de finos) exceden los alcances de este artículo.

## LA VARIACIÓN DE LA CALIDAD DE LOS ALIMENTOS

Las propiedades de los ingredientes y alimentos varían por causas propias (intrínsecas) y externas (extrínsecas), razón que justifica la necesidad de controlar la

calidad de los alimentos para formular raciones, aceptar ingredientes, dar valor económico o asegurar los requisitos normativos y comerciales de los productos terminados. La variación en las características intrínsecas obedecen a diferencias genéticas (*i.e.* variedades de forrajes), al estado de madurez (*i.e.* macollaje vs. floración), al ambiente (*i.e.* regiones o años), al procesamiento (*i.e.* extrusados de soja provenientes de plantas con distintos procedimientos) y a la conservación (*i.e.* condiciones de estiba). Esta variación no puede reducirse, salvo que se amplíe la descripción del ingrediente (*i.e.* heno de alfalfa vs. heno de alfalfa en botón floral proveniente de la zona de Rafaela). Por otro lado, la variación extrínseca surge de errores de muestreo, analíticos o derivados de la comunicación de los resultados (*i.e.* almidón por métodos enzimáticos o por hidrólisis ácida, fibra insoluble en detergente neutro (FDN) con o sin alfa amilasa, y expresada con o sin cenizas). Esta variación es controlable y puede reducirse.

En adición, existen causas intra e interlaboratorios que aportan variabilidad. La incertidumbre intralaboratorio se asocia a una misma técnica, equipamiento y operador, mientras que la interlaboratorio surge por la aplicación de la misma técnica en distintos laboratorios debido a las condiciones de trabajo particulares de cada uno (*i.e.* calidad del agua, temperatura, equipamientos y operarios). Es importante que la incertidumbre de los resultados se mantenga dentro de un rango aceptable para el tipo de alimento, elemento analizado y objetivo del análisis. Para mantener la incertidumbre analítica "bajo control" es importante que los laboratorios se ciñan a protocolos objetivos normalizados y que ejecuten controles internos y externos, tales como las pruebas de aptitud en rondas interlaboratorios (*i.e.* PROMEFA –Programa para el Mejoramiento de la Evaluación de Forrajes y Alimentos–; Jaurena, 2011).

La composición de los alimentos es variable y suele ser mayor en los resultados analíticos de los forrajes en comparación con los subproductos, y a su vez, en estos últimos con respecto a los granos (Gaggiotti *et al.*, 2020), tal como indican los coeficientes de variación porcentual (CV%) para proteína bruta (PB) y fibra insoluble en detergente ácido (FDA): 25 y 20% en forrajes frescos y conservados, 12 y 19% en subproductos y granos, respectivamente (Guaita y Fernández, 2005). No obstante las tendencias por clase de alimento, existen alimentos especialmente variables, tales como la burlanda de maíz (Suarez del Cerro *et al.*, 2019), el afrechillo de trigo y muchos expellers. En términos generales se

puede asumir que dentro de un mismo alimento la concentración energética puede variar en ca. 10%, los compuestos orgánicos, en un 15-30% y los inorgánicos, rondarían el 30% (Jaurena y Danelón, 2006). Por lo tanto, resulta evidente la necesidad de evaluar los alimentos para formular con exactitud y mejorar su utilización en la alimentación animal.

## MUESTREO Y ACONDICIONAMIENTO DE LAS MUESTRAS

Al muestreo se le suele prestar escasa atención (Adesogan *et al.*, 2000), pero realizado en forma inapropiada puede incrementar en 5 a 10 veces la variación extrínseca de los procedimientos de laboratorio (Allen y Whitfield, 1964). Aumentar el número de submuestras de campo suele mejorar eficazmente la exactitud y precisión de los resultados. En cualquier control de calidad es crítico considerar el tipo de material a muestrear, los objetivos del muestreo, la representatividad de la muestra y la forma de conservación hasta el momento de ser analizada.

El tipo de recurso a caracterizar (*i.e.* balanceado comercial, ensilaje, forraje fresco) determina la toma de muestra, el equipo necesario para el muestreo (*i.e.* caladores), y la forma de acondicionamiento y transporte (*i.e.* las muestras de alimentos húmedos son inestables y deben preservarse en frío). Asimismo, el tipo de análisis que se pretende realizar condiciona lo anterior, ya que el acondicionamiento variará en función del grado de labilidad del analito buscado. Por ejemplo, las muestras de forraje fresco pueden muestrearse y transportarse en conservadoras con hielo si lo que se quiere determinar es FDN y PB, pero si se pretende caracterizar las fracciones de azúcares solubles o de los lípidos polinsaturados se deberán conservar en hielo seco o nitrógeno líquido. En síntesis, la obtención de la muestra de alimento para analizar debe realizarse siguiendo recomendaciones de muestreo, almacenamiento y transporte adecuadas como las descritas por Jaurena y Danelón (2006) y Jaurena y Wawrzkievicz (2016).

Para estabilizar las muestras destinadas a los análisis químicos básicos (*i.e.* humedad, cenizas, PB, extracto etéreo -EE-, fibras) y de digestibilidad, éstas se suelen secar a  $60 \pm 5$  °C por ca. 48 h (encima de este rango pueden alterarse) obteniéndose la materia seca parcial (*i.e.* MS<sub>60°C</sub>). Para forrajes frescos y fermentados (*i.e.* ensilajes) el secado en frío, aunque raramente disponible, sería el sistema óptimo de secado ya que minimiza la pérdida de compuestos volátiles (*i.e.* ácidos grasos

volátiles y nitrógeno amoniacal). A continuación, las muestras estabilizadas son molidas para asegurar la uniformidad y homogeneidad necesarias para los análisis sobre pequeñas alícuotas (*i.e.* 100, 2.000 mg). La AOAC (2010) recomienda moler a través de una malla de 1 mm con molino de corte (*i.e.* Wiley), siempre que la muestra esté en buenas condiciones, mientras que para otras determinaciones podrían utilizarse molinos centrífugos o ciclónicos.

## METODOLOGÍAS DISPONIBLES PARA CUANTIFICAR LA CALIDAD DEL ALIMENTO

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. En esta sección, presentaremos de forma clara y comprensible las principales metodologías disponibles para evaluar la calidad de los alimentos. Exploraremos diferentes enfoques empleados para cuantificar la calidad del alimento abarcando un abanico de técnicas y herramientas que han sido desarrolladas y perfeccionadas a lo largo del tiempo. Resaltaremos la importancia de realizar una evaluación integral que complemente aspectos nutricionales, sensoriales, microbiológicos y físico-químicos de modo de lograr una visión completa y fundamentada de la calidad del alimento, lo cual contribuirá a la toma de decisiones más adecuadas para el trabajo de investigación, extensión o asesoramiento.

### CARACTERÍSTICAS ORGANOLÉPTICAS

Las valoraciones por características organolépticas (color, olor, textura) son económicas y subjetivas, y suelen utilizarse en forrajes ensilados, henos y alimentos concentrados (*i.e.* harina de pescado) para decidir la aceptación de ingredientes, negociar precios (*i.e.* para fardos y rollos de heno), y en muchos casos contribuye a explicar la selección o rechazo en el comedero.

### EVALUACIONES MICROBIOLÓGICAS

Las evaluaciones microbiológicas incluyen la identificación de las especies de microorganismos por distintas técnicas, y también la determinación de micotoxinas a las que se les atribuyen propiedades cancerígenas y mutagénicas, inmunodepresoras, asociación con trastornos estrogénicos, gastrointestinales, urogenitales, vasculares, renales y nerviosos, siendo frecuentemente la causa de intoxicaciones. Las micotoxinas son

metabolitos secundarios producidos por los hongos en respuesta a condiciones ambientales (*i.e.* humedad, temperatura, presencia de oxígeno, características del sustrato, daño de los granos por insectos) y no pueden ser eliminadas o desactivadas por tratamientos térmicos.

Se han identificado unas 300 micotoxinas, de las cuales unas pocas son peligrosas para el hombre, la producción y la salud animal. Entre éstas se destacan: aflatoxinas (B1, B2, G1, G2, M1, M2, producidas por *Aspergillus flavus* y *A. parasiticus*); ocratoxinas (A y B, producidas por *A. ochraceus*, *Penicillium viridicatum*, *P. cyclopium*); tricotecenos (deoxinivalenol o vomitoxina, toxina t-2, nivalenola -NIV- y diacetoxyscirpenola -DAS-, producidas por *Fusarium culmorum*, *F. graminearum*, *F. sporotrichioides*, *F. sporotrichioides*, *F. poae*); zearalenona (producido por *Fusarium culmorum*, *F. graminearum* y *F. poae*); fumonisinas (F1, F2 y F3, producidas por *F. proliferatum*, *F. verticillioides*) y alcaloides ergóticos.

La presencia de micotoxinas en los alimentos está asociada con pérdidas en la producción y tiene consecuencias en el comercio nacional e internacional. Se estima que el 25% de los cultivos alimentarios están afectados por hongos productores de micotoxinas, y que las pérdidas mundiales son del orden de 1.000 millones de t año<sup>-1</sup> (FAO, 2022). En general, resulta complejo establecer para las distintas especies de animales las tolerancias a las micotoxinas (solos o en conjunto), aunque muchos países tienen reglamentados los umbrales de aceptación para los alimentos. Aquellos interesados en profundizar este tema pueden consultar el artículo de Gimeno (2009).

## CARACTERÍSTICAS FÍSICAS

La evaluación física involucra la caracterización, entre otras, por el tamaño, la forma, el peso específico, el color, la flotabilidad, y la resistencia a la ruptura. En el caso de los alimentos "peletizados", además de los criterios nutricionales, microbiológicos y sanitarios, deben reunir propiedades físicas acordes con la especie animal y que permitan el almacenamiento, transporte y comercialización (*i.e.* tamaño, dureza, durabilidad, o incluso flotabilidad).

La valoración física y química es importante para la formulación de raciones. Los rumiantes, para promover un funcionamiento saludable del rumen, necesitan un aporte de FDN con un tamaño de partícula (valoración física) que asegure el "efecto fibra" necesario para promover la rumia, la producción de saliva y el consecuente aporte de sustancias "buffer" para contrarrestar la

reducción del pH durante la digestión, contribuyendo a un adecuado ambiente ruminal, estado de salud del animal y productividad. Si las partículas son muy pequeñas se pierde el efecto fibra y si son muy largas aumenta la oportunidad de selección y la brecha entre la ración consumida y formulada.

Para caracterizar el tamaño de las partículas de los ensilajes y dietas totalmente mezcladas se puede utilizar un separador de partículas (*i.e.* "Penn State Particle Separator") que es un sistema de tamices con cuatro bandejas. La bandeja superior (> 19 mm) retiene las partículas más grandes y flotantes que forman el estrato de forraje que típicamente se encuentra en la parte superior del rumen, y que requieren más masticación y salivación para reducir su tamaño aportando saliva y capacidad "buffer" al rumen. La bandeja intermedia (8 mm) no deja pasar las partículas que serían retenidas en el antes mencionado estrato superior de forraje, pero que se desmenuzan e hidratan en menor tiempo y sufren una colonización microbiana más veloz. A su vez, el tamiz de 4 mm retiene partículas pequeñas que se hidratan rápidamente y pueden romperse con facilidad siendo colonizadas por el microbiota ruminal (Heinrichs, 2013). Se trata de una técnica de fácil aplicación para calibrar el tamaño de picado durante la confección de ensilajes, o para evaluar el aporte del ensilaje durante el suministro, y ajustar la regulación del mixer cuando se preparan las dietas total o parcialmente mezcladas.

La FDN físicamente efectiva (FDN<sub>ef</sub>) se estima como el producto entre: (i) la suma de la proporción de la muestra que es retenida en los tamices superiores a 4 mm y (ii) el contenido de FDN de todo el alimento (Mertens, 1997, 2011). Para los cálculos, debe descontarse, por ejemplo, el grano de maíz retenido en la bandeja de 4 mm o los subproductos peletizados que fueran retenidos en cualquiera de los tamices. Los valores deseables para cada una de las bandejas varían según el tipo de forraje base (*i.e.* valores para silajes de planta entera de maíz por bandeja: 3-8% superior, 45-65% intermedia, 20-30% inferior, <10% en la última). Para más detalles consultar Heinrich (2013).

## MICROSCOPIA Y MICROHISTOLOGÍA

La microscopía óptica permite evaluar cuali y cuantitativamente los alimentos y las mezclas para determinar la presencia de ingredientes y sustancias perjudiciales, detectar adulteraciones, o plantas y semillas tóxicas. En las determinaciones con lupa, la preparación de la muestra es simple pero cuando se requiere

mayor detalle (*i.e.* características de los tejidos, identificación de almidones) se debe utilizar un microscopio (*i.e.* óptico, de fluorescencia, confocal, electrónico de transmisión) y la muestra debe ser montada en un líquido o sustancia semiviscosa. Las fracciones se identifican por su forma, tamaño y ordenación de las células o partículas y requiere del armado de patrones de referencia, y entrenamiento tanto en el manejo del material óptico como en el reconocimiento de las características. Muchas veces se complementa con técnicas cito-histoquímicas para la identificación o cuantificación de sustancias (*i.e.* con fenol y calor para sílice).

Otra aplicación de la microscopía óptica se relaciona con estudios microhistológicos en la evaluación de calidad de forrajes a partir de la degradación de tejidos y detección de sustancias indigestibles, y en estudios de dietas de herbívoros (Fernández Pepi *et al.*, 2018). Es especialmente útil en sistemas pastoriles extensivos para analizar selectividad, solapamientos tróficos o competencia entre especies y tiene la virtud de no alterar el comportamiento de los animales, ya que compara los microrrestos vegetales presentes en las heces con el material vegetal del área de estudio (Arriaga, 1986).

## ANÁLISIS QUÍMICOS

Los análisis químicos proveen información sobre el contenido de nutrientes y sustancias de importancia que pueden limitar la productividad en forma directa o indirecta en base a la asociación, por ejemplo, con la digestibilidad y el consumo (*i.e.* PB, FDA, FDN; Detmann *et al.*, 2008). Las determinaciones químicas, físicas y biológicas que se realizan en condiciones controladas de laboratorio tienen la ventaja de ser reproducibles, sencillas, económicas y aplicables para comparaciones entre especies y estados fenológicos dentro de una misma especie. Además, permiten el procesamiento de muchas muestras en intervalos cortos de tiempo.

El método proximal o Weende caracteriza a los alimentos según el contenido de humedad, cenizas, PB, fibra cruda (FC) o bruta, EE, y extracto libre de nitrógeno o extracto no nitrogenado (ELN o ENN; ver Ecuación 1) que correspondería idealmente con los azúcares solubles y el almidón.

$$\text{ELN o ENN (\%)} = 100 - (\text{cenizas} + \text{PB} + \text{FC} + \text{EE})$$

[Ecuación 1]

Como consecuencia de las limitaciones del sistema de Weende para caracterizar adecuadamente los carbo-

hidratos estructurales en forrajes, Van Soest propuso un esquema basado en la solubilización diferencial con detergentes que resulta práctico, económico y que ha sido ampliamente adoptado. Este sistema es especialmente adecuado para rumiantes y diferencia entre contenido y pared celular (PC). La FDN, pese a la discrepancia con respecto a la PC histológica, actualmente es el mejor descriptor disponible de la PC para rumiantes y representa de forma grosera el conjunto de celulosa, hemicelulosas y lignina.

En adición a las características relacionadas con el contenido de nutrientes y su disponibilidad para el animal (*i.e.* proteína, lípidos y sus respectivas digestibilidades), existen compuestos que pueden impactar negativamente sobre la calidad que pueden identificarse por técnicas específicas. A modo de ejemplo, la sílice (SiO<sub>2</sub>) que ha mostrado efectos negativos sobre la aceptabilidad, el consumo, la degradación de la pared celular y la absorción de carbohidratos y nitrógeno, y los metabolitos secundarios (sustancias sintetizadas por muchas plantas como defensa contra microorganismos, insectos o herbívoros que también pueden presentar efectos negativos; *i.e.* taninos, saponinas, fitoestrógenos en trébol rojo -*Trifolium pratense* L.-).

A continuación, se describen aspectos particulares de la determinación de: (i) la humedad de los alimentos, (ii) el contenido de proteína, (iii) la fracción de cenizas, (iv) el extracto etéreo (EE), (v) el contenido de carbohidratos y (vi) el contenido de lignina.

### i. Humedad

El contenido de agua de los alimentos es variable dificultando la interpretación de los resultados analíticos; de ahí que para rumiantes, la concentración de los nutrientes y analitos se suele expresar por convención en base seca. La determinación del contenido de humedad (o su complemento, la materia seca -MS-) se realiza mayoritariamente por secado en estufa. En las muestras secas (< 20% de humedad natural o luego del acondicionamiento), luego de ser molidas, se comprueba la humedad residual a 105 °C sobre una alícuota por ca. 4 h (MS<sub>105°C</sub>). Usualmente se reporta la MS total según la siguiente ecuación:

$$\text{MS total (\%)} = \text{MS}_{60^\circ\text{C}} (\%) \times \text{MS}_{105^\circ\text{C}} (\%) \times 100^{-1}$$

[Ecuación 2]

Existen otros métodos para determinar el contenido de humedad como el secado en frío. El secado en microondas altera las muestras inutilizándolas para

análisis subsiguientes, por lo que sirve exclusivamente para estimaciones de biomasa forrajera aérea o cálculos de asignación de forraje.

## ii. Proteína

El contenido de proteína de los alimentos se suele estimar determinando el contenido de nitrógeno total (Nt) por el método Kjeldahl, asumiendo el 16% del peso de las proteínas es nitrógeno (Ecuación 3).

$$PB = Nt \times 0,16^{-1} = Nt \times 6,25$$

[Ecuación 3]

El Nt abarca a todos los compuestos nitrogenados, y por tanto incluye proteínas verdaderas y compuestos nitrogenados no proteicos (*i.e.* amidas, amoníaco, péptidos, algunas vitaminas, urea y aminoácidos libres). Es una determinación manual que consiste en la digestión de la muestra con ácido sulfúrico concentrado en caliente (junto a catalizadores), proceso que convierte la mayoría de las sustancias nitrogenadas en sulfato de amonio, seguido de una destilación hasta una solución ácida que se titula para calcular la cantidad de nitrógeno procedente de la muestra. El método es confiable y reproducible, aunque muchos laboratorios suelen presentar problemas en los procesos de digestión y destilación generando valores subestimados o con alta incertidumbre de medición. Es un método muy difundido especialmente apto para muestras no homogéneas que pueden variar en la masa de alícuota a analizar.

La técnica de combustión de Dumas es una alternativa que suele dar valores ligeramente superiores que el Kjeldahl ya que incluye compuestos que no son detectados total o parcialmente por este último (*i.e.* nitratos, nitritos, compuestos heterocíclicos). Se basa en combustionar la muestra a 950 °C en presencia de oxígeno donde el nitrógeno es convertido en NO<sub>x</sub>, que luego es reducido a N<sub>2</sub> y medido en una celda de conductividad térmica. Es una técnica automatizada (lo que ahorra tiempo operativo), que no emplea químicos potencialmente peligrosos y trabaja con tamaños de muestra pequeños lo que la hace especialmente apta para analizar grandes números de muestras similares.

En algunos casos, la discriminación entre fracciones de PB de utilidad para la nutrición de rumiantes se puede aproximar por el método propuesto por Licitra *et al.* (1996) o métodos de precipitación diferencial con ácido tricloroacético o acetona. Las técnicas colorimétricas Bradford, Biuret o Lowry se aplican cuando se necesita medir la proteína verdadera (Bradford, 1976). Otros

métodos se aplican cuando se requiere mayor grado de detalle (*i.e.* HPLC por sus siglas "high pressure liquid chromatography" para determinar los aminoácidos individuales).

## iii. Cenizas

La fracción de cenizas de un alimento es el residuo de la muestra combustionada en una mufla a 450-500 °C (elimina los compuestos orgánicos) y cuantifica el contenido total de minerales de un alimento. Por lo tanto, el contenido de materia orgánica (MO) se puede calcular por diferencia según la Ecuación 4:

$$MO_{\%bs} = 100\% MS - Cenizas_{\%bs}$$

[Ecuación 4]

donde, "bs" indica base seca. El contenido de cenizas generalmente ronda en valores ≤10% de la MS para un gran número de alimentos, excepto si el alimento se contaminó con tierra u otros ingredientes. En algunas ocasiones el resultado de cenizas permite identificar adulteraciones, principalmente en mezclas de alimentos.

## iv. Extracto etéreo

El EE incluye una variedad de compuestos solubles en solventes orgánicos, constituyendo un estimador de la fracción lipídica. Contiene, además de lípidos (grasas y aceites), otras sustancias como clorofila, ácidos grasos libres, esteroides, resinas, pigmentos, vitaminas liposolubles (A, D, E, y K), aceites volátiles y ceras. Los lípidos son compuestos de elevada densidad energética y contienen aproximadamente 2,25 veces más energía bruta que un carbohidrato por unidad de peso.

Para algunos alimentos, como extrusados con tratamientos térmicos, de origen animal o con alto contenido de lípidos, suele ser preferible hacer la determinación de EE con hidrólisis ácida previa (solubiliza los hidratos de carbono) para garantizar la extracción completa de los lípidos.

## v. Carbohidratos

Los carbohidratos reúnen un diverso grupo de biomoléculas que constituyen la principal fuente de energía para los rumiantes. En principio resulta útil distinguirlos en estructurales y no estructurales (CE y CNE) según su ubicación respectivamente en la PC y en el contenido celular (conceptos histológicos), distinción que responde no solo a diferentes roles en el metabolismo de la planta, sino también en la digestión en el animal.

Los tejidos de la PC de las plantas están estrechamente asociados al concepto de fibra, pero no son sinónimos. Las fibras son importantes por sus beneficios sobre la

salud, su valor como indicador de la calidad de los alimentos, y su asociación negativa con la digestibilidad y el consumo. Desde el punto de vista nutricional, la fibra presenta características únicas dado que está definida en base a propiedades nutricionales (*i.e.* efectos fisiológicos y digestivos) pero se mide por medios químicos que no siempre reflejan su comportamiento durante la digestión. Se trata de una entidad química heterogénea y estructuralmente compleja que se mide a través de técnicas empíricas (*i.e.* no existe un estándar como valor de referencia, tal como es el caso de los minerales). Por esto la interpretación del valor de fibra está condicionada por el procedimiento analítico (*i.e.* FC, FDA, FDN).

Para el caso de los rumiantes, la fibra puede definirse como la fracción de los alimentos que resulta indigestible o de lenta digestión y que ocupa espacio en el tracto gastrointestinal de los animales (Mertens, 1997). La determinación de FDN parecería ajustarse a la definición, permitiendo diferenciar gramíneas de leguminosas, así como forrajes de concentrados. Además, se ha demostrado su asociación con el consumo, la densidad y voluminosidad de los alimentos, la tasa de digestión y la depresión en la digestibilidad asociada con los altos niveles de consumo (Mertens, 1997). De las fracciones informadas por el sistema de detergentes, la FDN es la de mayor importancia por su asociación negativa con el consumo voluntario (Mertens, 1992).

El sistema propuesto por Van Soest (1967) consiste en dos digestiones con calor, una con detergente a pH neutro –FDN– y otra ácida –FDA–, luego una tercera digestión con ácido sulfúrico 72% p/p a temperatura ambiente y finalmente una ignición para cuantificar las cenizas insolubles que persisten en el residuo de las digestiones (Van Soest *et al.*, 1991). La secuencia de digestiones retiene en el primer residuo principalmente celulosa, hemicelulosa y lignina, el lavado posterior con detergente ácido solubiliza la hemicelulosa y el subsiguiente tratamiento con ácido sulfúrico hidroliza la celulosa, por lo que el residuo final retiene la lignina junto a una porción de cenizas. La ignición del residuo final permite cuantificar la denominada lignina en detergente ácido (LDA), y las diferencias entre las tres fracciones permiten estimar aproximadamente la proporción de hemicelulosa (FDN – FDA) y celulosa (FDA – LDA).

El procedimiento ha permanecido relativamente igual desde su propuesta original con algunas actualizaciones presentadas en 1991 (Van Soest *et al.*, 1991). Se trata de un método sencillo que fracciona los carbohi-

dratos de acuerdo con su disponibilidad nutricional (Cherney, 2000), dado que la pectina y otros glicósidos de la PC vegetal se disuelven con el detergente neutro y se contabilizan en el contenido celular (aquí se evidencia la discrepancia con el criterio histológico). Sin embargo, esta aparente inexactitud que podría ser de importancia en ciertos alimentos (*i.e.* leguminosas), no es de mayor relevancia en la nutrición de rumiantes dado que son rápida y completamente digeridos por los microorganismos del rumen y por tanto comparten un destino común junto a la mayor parte del almidón, los oligosacáridos y la sacarosa. Por estas razones, la definición práctica de fibra para los rumiantes se limita a las sustancias insolubles de la PC (*i.e.* FDN que incluye principalmente celulosa, hemicelulosa, lignina y fracciones de proteína).

Entre los principales problemas que presenta se destaca la sobrestimación de la FDN debido a la contaminación con almidón en algunos forrajes, razón por la cual se incorporó el uso de una enzima alfa-amilasa termoestable en la etapa de digestión con el detergente neutro (Van Soest *et al.*, 1991). Actualmente se encuentra muy difundido el uso del sistema ANKOM (Ankom Technology®; Macedon, NY 14502, USA). Otro punto crítico de la técnica está relacionado con el tamaño de partícula utilizado para preparar las muestras. Los molinos centrífugos o ciclónicos generan distribuciones de partículas 50% más pequeñas que los de corte para el mismo tamaño de malla, lo que resulta en valores de fibra más bajos y mayor dificultad de filtrado (Fahey *et al.*, 2019). En el caso de estos molinos tipo ciclón o centrífugo para obtener muestras con un tamaño de partícula promedio de 1 mm, se recomienda utilizar una malla de 2 mm; pero el daño por desgarramiento que provocan sobre la PC también podría contribuir a subestimar el contenido de fibra.

La estimación de la incertidumbre en condiciones de repetibilidad (ver Ecuación 5) a partir de pruebas interlaboratorio del PROMEFA mostró que la mediana para FDN, FDA y LDA fue de 7, 3, y 2 g kg<sup>-1</sup> MS para concentrados energéticos, 8, 4 y 1 para concentrados proteicos y 12, 8 y 3 para voluminosos (Frasson *et al.*, 2017).

$$r = 2,77 \times SL \times \sqrt{2^{-1}}$$

[Ecuación 5]

donde  $SL_2$  es la varianza intralaboratorio entre réplicas.

El grupo de los CNE (carbohidratos no estructurales) agrupa a sustancias solubles e insolubles en medio

acuoso a temperatura ambiente (*i.e.* carbohidratos solubles en alcohol o agua, fructosanos y almidón). Las metodologías de determinación más difundidas son por colorimetría y requieren la extracción en solución de las cadenas carbonadas y posteriormente la liberación de los monómeros que la componen. Se trata de un grupo heterogéneo de compuestos de bajo peso molecular, que son fermentados en el rumen con rapidez.

Es muy común que se solicite la determinación de carbohidratos solubles (*i.e.* materiales para ensilaje, alimentos en general para rumiantes), pero para su correcta interpretación es crucial identificar claramente el solvente y la temperatura de la extracción (*i.e.* etanol, etanol/agua, agua sola, fría o a 100 °C, con o sin hidrólisis) ya que de ello dependen cuali y cuantitativamente los compuestos cuantificados (mono, di y trisacáridos, fructosanos y almidón). Estudios de intercomparación entre laboratorios realizados en el PROMEFA mostraron que para una misma muestra la discrepancia entre resultados fue de 1 a 393 g kg<sup>-1</sup> MS debido a las diferentes técnicas aplicadas.

En el caso del almidón y para alimentos destinados a rumiantes es recomendable utilizar técnicas enzimáticas que aseguren la especificidad de la hidrólisis para que el extracto no esté contaminado con cadenas carbonadas de otra naturaleza (*i.e.* pectinas, beta-glucanos o fructosanos).

#### vi. Lignina

La lignina es el componente de la PC que actúa como principal limitante de la degradación de los polisacáridos fibrosos en el rumen (Van Soest, 1994) y, por ello, de su digestibilidad (Vogel y Jung, 2001). Es una red compleja de compuestos aromáticos (fenilpropanoides), característica de las paredes secundarias vegetales. Está constituida por tres alcoholes, *p*-cumarílico, coniferílico y sinapílico (unidades H, G y S), formando estructuras de gran complejidad. El resultado es un polímero altamente ramificado, complejo, heterogéneo y tridimensional que se asocia por uniones éster, éter y C-C con los carbohidratos estructurales de las plantas (Susmel y Stefanon, 1993). Su naturaleza compleja e hidrofóbica dificulta la accesibilidad de las enzimas digestivas de los mamíferos y de los organismos anaeróbicos que degradan los poliglicanos (McL. Dryden, 2008). La variabilidad observada depende de la especie vegetal y su estado fenológico, del tejido, de las células en que se encuentran depositadas y de las condiciones ambientales.

Los polímeros fenilpropanoides antes mencionados

suelen distinguirse en una fracción polimerizada e insoluble ("core lignin") que forma una matriz amorfa (es la lignina a la que nos referimos en nutrición de rumiantes) y otra soluble en álcali (ácidos ferúlico y *p*-cumárico; Hatfield *et al.*, 1999) asociada a las hemicelulosas de la pared secundaria (Bidlack *et al.*, 1992). Además, existen unidades de sustancias fenólicas que enlazan cadenas de poliglicanos dificultando también su digestibilidad (M. Ciancia, comunicación personal; agosto 2020).

Desde la perspectiva de la evaluación nutricional de forrajes, la definición es operacional antes que química, dado que la importancia de la lignina es por su asociación con la indigestibilidad del alimento (Van Soest, 1994). La lignina se puede determinar por un amplio número de técnicas analíticas que resultan más o menos útiles según la definición que se tome (varía según la disciplina y propósito) y los objetivos perseguidos con la determinación (*i.e.* VN de forrajes o calidad de la pulpa de celulosa para la industria del papel). La técnica más utilizada es la antes mencionada para LDA que luego del tratamiento con detergente ácido y ácido sulfúrico recupera un residuo rico en hetero-polímeros fenólicos asociados a las paredes celulares de las plantas y que restringen su digestión. Por otro lado, también se ha demostrado que durante el proceso de digestión ruminal se liberan complejos de carbohidratos con fenoles solubles que resisten la digestión microbiana (Van Soest, 1994). Todo esto afecta el grado de degradabilidad y digestibilidad del forraje.

### DIGESTIBILIDAD Y DEGRADABILIDAD DE LOS ALIMENTOS

Además de los análisis químicos que determinan los contenidos de nutrientes de los alimentos (*i.e.* proteínas, lípidos), existen métodos que permiten caracterizar la biodisponibilidad y tasa de liberación, ya sea de fracciones individuales (*i.e.* PB, FDN), o de toda la MS o MO. Estos métodos comprenden las medidas de digestibilidad *in vivo*, *in sacco* (o *in situ*) e *in vitro*. Se entiende por digestibilidad a la proporción del alimento o componente que ingiere el animal que no aparece en las heces. Es una de las variables con mayor impacto sobre el valor nutricional de los alimentos; se utiliza para estimar la concentración y las pérdidas energéticas, y resulta imprescindible para abordar la formulación de raciones.

Las mediciones *in vivo* expresan la respuesta verdadera de los animales a los tratamientos alimenticios, y por ende constituyen los resultados de referencia contra

los cuales se ajustan los métodos de laboratorio. Su ejecución requiere grandes cantidades de alimento y elevado número de animales, insume mucho tiempo (más que el adecuado para una evaluación comercial), exige recursos humanos calificados y resulta extremadamente costosa. En adición, no todos los alimentos pueden evaluarse por esta metodología en forma aislada (*i.e.* granos, subproductos).

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  $-ivDMS_{Ap}$  y  $ivDMS_{Vr}$ , respectivamente-, digestibilidad enzimática, producción de gas, digestibilidad *in sacco*).

La técnica *in sacco* (también denominada *in situ* o "de las bolsitas"; Mehrez y Orskov, 1977) fue originalmente desarrollada para evaluar forrajes (Dewhurst *et al.*, 1995) 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 fístulas permanentes de rumen. Luego de permanecer por tiempos variables en contacto con la microbiota ruminal (*i.e.* 2, 4, 6, 12..., 36, 48, 72 h) se mide el residuo remanente en las bolsitas. Esto permite estimar (i) la fracción inmediatamente soluble del alimento ("A"), (ii) la fracción insoluble potencialmente degradable ("B") y (iii) la tasa por unidad de tiempo (" $k_d$ ") a la que se degrada "B". La degradación del alimento o de la fracción de interés (Degr.) a un tiempo "t" puede describirse a través de un modelo del tipo:

$$\text{Degr}_t = A + B \times (1 - e^{-k_d \times t})$$

[Ecuación 6]

Una alternativa para estimar la digestibilidad de un alimento es medir por este método la degradabilidad del alimento o fracción para un tiempo fijo (*i.e.* 48 h). Dependiendo del interés del análisis, los animales pueden alimentarse para generar un ambiente ruminal estándar (*i.e.* dieta a base de forraje seco con el agregado de un concentrado energético, *i.e.* 70:30) o usando la misma dieta de la cual forma parte el sustrato en estudio (*i.e.* medir  $\text{Degr}_{48h}$  de pasto llorón en un ambiente ruminal de novillos alimentados con pasto llorón).

A diferencia de lo usual para los análisis químicos (tamaño de molido de 1 mm), para estudios *in sacco*, se recomienda un tamaño de partícula  $\geq 2$  mm (NRC, 2001). Sin embargo, dado que la distribución del tamaño de

partícula real después de la molienda puede diferir entre materiales (Noziere y Michalet-Doreau, 2000), en muchos casos se utilizan tamaños de partícula mayores (*i.e.* 3 ó 4 mm o incluso hasta 6 mm para casos especiales).

La técnica *in sacco* permite describir la cinética de digestión de los alimentos y los resultados a tiempo fijo (*i.e.* 48 h), y ha mostrado razonables correlaciones con los resultados de digestibilidad aparente *in vivo*. Sin embargo, uno de los principales inconvenientes de esta técnica es que, por un lado, depende de animales con fístula y, por otro, es difícil de estandarizar ya que está sujeta a considerable variación (*i.e.* diferencias entre animales, formas de alimentación, tipos de alimento, ambiente, técnica de lavado de las bolsitas; Marten, 1981). Además, parte de la variabilidad (especialmente en concentrados energéticos y proteicos o materiales finamente molidos) ocurre por la pérdida de material a través de los poros de la tela (migración) llevando a la sobrestimación de la degradabilidad (Dewhurst *et al.*, 1995) o de alguno de sus parámetros asociados (*i.e.* A,  $k_d$ ; ver Ecuación 6).

Por su parte, las metodologías *in vitro* simulan lo que ocurre en el tracto gastrointestinal de los animales y ofrecen indicadores de la calidad energética de los alimentos. 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. Además, requieren poco material, son relativamente rápidas, y necesitan menos infraestructura y recursos humanos que otras alternativas (Getachew *et al.*, 1998). Un aspecto de importancia es que las metodologías *in vitro* permiten evaluar en forma simultánea y en las mismas condiciones (*i.e.* el mismo fluido ruminal) un gran número de muestras (algo imposible para la técnica *in vivo* o *in sacco*), lo que las vuelve adecuadas para los programas de fitomejoramiento o de testeo de aditivos nutricionales.

No obstante, los métodos *in vitro* tampoco están libres de desventajas, ya que algunos requieren animales canulados y presentan una alta dependencia del tipo de alimentación del animal donante que impactan sobre la reproducibilidad de los resultados. También se ha mencionado que puede haber un aumento de la fase de retardo (o fase "lag", período que tardan los microorganismos en degradar el alimento en una magnitud detectable) en alimentos ricos en almidón, y una digestión más lenta respecto a la técnica *in sacco* (Dewhurst *et al.*, 1995).

Las técnicas *in vitro* de punto final registran la cantidad de sustrato desaparecido en un tiempo de digestión fijo (en general, 48 h). Las más usuales en la Argentina y latinoamérica utilizan "licor ruminal" (*i.e.* fluido y alimento parcialmente digerido extraídos del rumen para usar como inóculo por su contenido de microorganismos ruminales) colectado de animales con fístulas permanentes de rumen. La técnica de Tilley y Terry (1963) implica la incubación de la muestra del alimento en un medio con licor ruminal, junto con un medio "buffer" (saliva sintética) en condiciones anaeróbicas a 38 °C, seguido de una fase de digestión con pepsina en medio ácido por otras 48 h. El resultado ( $ivDMS_{Ap}$ ) ha mostrado buenas correlaciones con valores de digestibilidad de la materia seca aparente *in vivo* ( $DMS_{Ap}$ ) (McDonald *et al.*, 2011). Por su parte, la técnica de Van Soest (Goering y Van Soest, 1970) cuenta con una primera fase similar a la anterior, pero interrumpe la fermentación con un lavado con solución de detergente neutro hirviendo lo que reduce la duración del procedimiento en 48 h. Debido al lavado con solución de detergente neutro, el resultado se corresponde con  $ivDMS_V$  que se relaciona con la DMS verdadera *in vivo*. Ambas técnicas han mostrado niveles de incertidumbre comparables (Jaurena *et al.*, 2021), y si bien la asociación entre ellas es buena (Ricci *et al.*, 2009), hay que tener en cuenta que la  $DMS_{Ap}$  es numéricamente inferior a la  $DMS_V$ , dado que en la segunda se lava la masa microbiana retenida en el residuo final con el detergente neutro. En la actualidad se ha popularizado una variante de los métodos anteriores desarrollada por la empresa ANKOM (Ankom Technol. 2052 O'Neil Road, Macedon NY 14502) que emplea bolsitas de filtrado y permite obtener resultados para digestibilidad verdadera o aparente. En este último caso, la diferencia entre  $ivDMS_{Ap}$  y  $ivDMS_V$  resulta, además del lavado con detergente neutro, por la migración de partículas a través de los poros de las bolsitas de incubación (Damiran *et al.*, 2008).

Con el propósito de evitar el uso de animales fistulados, otras técnicas reemplazan el licor ruminal por preparaciones de enzimas celulolíticas fúngicas (McDonald *et al.*, 2011). Además, evitan las condiciones de anaerobiosis simplificando la técnica y en algunos casos reducen la variación entre incubaciones (Jones y Theodorou, 2000). Las comparaciones con resultados *in vivo* han mostrado en algunos casos peores ajustes que los resultados obtenidos con técnicas que usan licor ruminal (McDonald *et al.*, 2011), pero se puede asumir que ofrecen niveles de exactitud similares a los métodos por

fermentación. No obstante, se han observado interacciones con diferentes tipos de sustratos que obligan a utilizar con cautela todos estos métodos cuando se aplican sobre sustratos de los cuales no se tienen evidencias de su aplicabilidad (Jones y Theodorou, 2000).

Junto a estas técnicas existen opciones *in vitro* que permiten describir la cinética de degradación en forma indirecta monitoreando la producción de gas (Menke *et al.*, 1979), o través del monitoreo de los cambios de presión dentro de fermentadores sellados (Theodorou, 1993). La proporcionalidad entre el sustrato desaparecido y el volumen de gas producido respaldan su validez (Jaurena *et al.*, 2009). En algunos casos se aplica en forma complementaria con la técnica de desaparición de la MS ofreciendo simultáneamente la descripción de la cinética de digestión y la desaparición total del sustrato. Asimismo, la técnica puede adaptarse para monitorear los productos de la fermentación (*i.e.* ácidos grasos volátiles,  $N-NH_3$ , gases), para comparar distintas dietas, especies, o condiciones dentro del rumen.

La determinación de la fracción de la FDN digestible (FDNd,  $g\ kg^{-1}\ MS$ ) o de la digestibilidad de la FDN (DFDN  $g\ kg^{-1}\ FDN$ ) merecen una mención especial ya que junto con el contenido de FDN tienen un alto impacto sobre la digestibilidad de la materia seca -DMS- del forraje. En términos generales, puede asumirse que la digestibilidad de los contenidos celulares (1 - FDN) es del 98%, mientras que la fracción FDN contiene una fracción no digestible y otra de lenta digestión, tal como se expone en la Ecuación 7 (Van Soest, 1967):

$$DMS = 0,98 \times (1 - FDN) + FDN \times DFDN$$

[Ecuación 7]

De aquí que las variaciones en los contenidos de FDN de los forrajes y en la DFDN (0,40 a 0,70) dan cuenta de las variaciones en la DMS, y se ha demostrado que la DFDN de los forrajes se correlaciona positivamente con el consumo y la producción de leche (Hall y Mertens, 2017).

Las medidas de incertidumbre en condiciones de repetibilidad de las medidas de  $ivDMS_V$  a partir de resultados obtenidos en el PROMEFA mostraron que la mediana de los CV% en condiciones de repetibilidad fueron 1,9% para los concentrados, y 3,0-3,2% para forrajes. Para las condiciones de reproducibilidad, la incertidumbre tomó valores de 24, 34 y 50  $g\ kg^{-1}\ MS$  respectivamente para los concentrados, forrajes de alta calidad y forrajes de baja calidad (datos calculados a partir de resultados

del PROMEFA, 2022).

La falta de animales fistulados y de la infraestructura necesaria suele llevar a que la estimación del contenido energético de los alimentos se haga a partir de modelos matemáticos sencillos basados en determinaciones químicas (*i.e.* FDA, FC, PB, EE). En general, dichos modelos resultan de groseras extrapolaciones respecto a los datos que les dieron origen y carecen de las validaciones necesarias, razones que justifican la alta incertidumbre de sus predicciones.

### ESPECTROSCOPIA POR INFRARROJO CERCANO (NIRS)

La espectroscopía por infrarrojo cercano (NIRS, "near infrared reflectance spectrum") es una tecnología empírica e indirecta que predice los componentes orgánicos del alimento en base al patrón de absorción único del espectro de luz infrarrojo de cada tipo de molécula. Es una tecnología no destructiva, rápida, de bajo costo operativo y ambientalmente amigable; sin embargo, tiene algunas desventajas como el alto costo de los equipos, requiere complejas operaciones matemáticas y necesita una extensiva y actualizada calibración. Además, las muestras usadas para calibración deben ser similares a las que se evaluarán, y hay que tener en cuenta que la incertidumbre de la medición se transfiere de los análisis químicos a los predichos.

La metodología ha sido aplicada con resultados confiables para la predicción MS, PB, carbohidratos estructurales y no estructurales (CE y CNE), grasa y hasta para la identificación de factores antinutricionales. Tiene un alto potencial de adopción, especialmente para analizar concentrados.

### COMPLEMENTARIEDAD ENTRE METODOLOGÍAS

Son muchas las situaciones en que es necesario complementar herramientas de evaluación. Por ejemplo, en el caso del cálculo de la fibra efectiva se combinan evaluaciones físicas y químicas, o en el caso del mejoramiento genético vegetal donde los cambios de calidad obedecen a modificaciones morfo-anatómicas.

Para la evaluación de los forrajes en los programas de fitomejoramiento por caracteres asociados con la calidad se necesitan caracteres con un adecuado grado de heredabilidad, identificables con técnicas de laboratorio rápidas, repetibles, y que estén directamente relacionadas con el desempeño de los animales. La técnica de Tilley y Terry (1963) y sus modificaciones fueron

rápida adoptadas por la comunidad científica, pero los cambios en  $ivDMS_{AP}$  son el resultado de cambios en los contenidos o propiedades de la PC o de otras sustancias, así como en aspectos anatómicos e histológicos de los órganos. Es decir, el aumento en la  $ivDMS_{AP}$  resulta de aumentos de los carbohidratos solubles, disminuciones en la concentración de compuestos indigestibles de la PC y menor cantidad de entrecruzamientos de ferúlico entre los CE y la lignina (Casler y van Santen, 2010).

Está aceptado que los análisis químicos de FDN, FDA y LDA contribuyen a explicar las variaciones en la DMS, pero se ha mostrado que la caracterización microhistológica puede complementar dicha información diferenciando tejidos según la velocidad de degradación, evidenciando cambios morfológicos no detectables de otro modo (Fernández Pepi *et al.*, 2016). La composición, estructura y arquitectura de la PC es química e histológicamente compleja y variable entre especies y tejidos de una misma especie. Esto condiciona el ataque microbiano a los polisacáridos estructurales y, en último término, la tasa y extensión de la degradación ruminal (Stern *et al.*, 1997) modificando el aprovechamiento de los forrajes. Por estos motivos, las limitaciones anatómicas son tan o más importantes que las limitaciones impuestas por la composición química (Wilson y Mertens, 1995).

Los analitos de laboratorio con los que se pretende estimar el consumo potencial pueden resultar insuficientes para explicar la ingesta de forraje dado que depende no sólo de su composición (*i.e.* FDN, FDNd; Casler, 2001) sino también de la arquitectura de la planta (*i.e.* altura, densidad de hojas por unidad de volumen). En situaciones de pastoreo, especialmente en pasturas o pastizales heterogéneos, los animales tendrán mayor oportunidad de ejercer su capacidad de selección, resultando que el consumo dependerá principalmente de las interacciones entre la estructura del follaje, la accesibilidad, la capacidad de selección de los animales, el manejo y presión del pastoreo, o la resistencia a la prehensión, entre otros, antes que de la composición química.

### CONCLUSIONES

La evaluación de los alimentos es crucial para la gestión de los sistemas de producción animal y se basa en el uso de indicadores (*i.e.* físicos, químicos, nutricionales) producto de métodos de evaluación objetivos. Las características de los alimentos varían por causas intínsecas y extrínsecas, y si bien las primeras justifican

todo el proceso de evaluación de calidad, es necesario mantener las últimas bajo control (*i.e.* errores asociados al muestreo, transporte y conservación, o relacionadas con las técnicas analíticas empleadas). Las técnicas disponibles varían desde apreciaciones organolépticas sencillas a técnicas de diversa complejidad para determinar el aporte de los nutrientes y su disponibilidad para los animales. Si bien hoy día sigue prevaleciendo el sistema proximal de análisis para el caso particular de los rumiantes, otras técnicas como la de Van Soest o la determinación de fibra efectiva contribuyen a mejorar la

descripción de los alimentos y su efecto sobre el ganado. Existen varias técnicas que permiten predecir con razonable exactitud la digestibilidad o valor energético de los alimentos tales como los sistemas *in vitro* de digestión. Por otro lado, hay un creciente desarrollo de sistemas indirectos como el NIRS que resultan valiosos auxiliares para el control de calidad en situaciones donde se deben controlar muchas muestras en poco tiempo. En general, el uso de diferentes aproximaciones concurre para efectuar planteos y diagnósticos más exactos para el manejo de sistemas productivos.

## BIBLIOGRAFÍA

- Adesogan, A. T., Givens, D. I. y Owen, E. (2000). Measuring chemical composition and nutritive value in forages. En: t'Manetje, L. y Jones, R. M. (Eds.). *Field and laboratory methods for grassland and animal production research* (pp. 263-278). CABI Publishing.
- Allen, M. y Whitfield, A. B. (1964). Rapid methods for the routine determination of major nutrient elements and iron and manganese in the leaves of fruit trees. En: *Annual Report of the East Malling Research Station* (pp. 143-147).
- Association of Official Agricultural Chemists-AOAC. (2010). *Official methods of analysis of Association of Official Analytical Chemists*. 18ª ed.
- Arriaga, M. O. (1986). Metodología adaptada al estudio de hábitos alimentarios en insectos. *Comunicaciones de Museo Argentino de Ciencias Naturales "Bernardino Rivadavia" e Instituto Nacional de Investigaciones de las Ciencias Naturales*, 2(15), 103-111.
- Bidlack, J., Malone, M. y Benson, R. (1992). Molecular structure and component integration of secondary cell walls in plants. *Proceeding of the Oclahoma Academy of Sciences*, 72, 51-6.
- Bradford, M. M. (1976). A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry*, 72, 248-254. [https://doi.org/10.1016/0003-2697\(76\)90527-3](https://doi.org/10.1016/0003-2697(76)90527-3)
- Casler M. D. (2001). Breeding forage crops for increased nutritional value. *Advances in Agronomy*, 71, 52-100.
- Casler, M. D. y van Santen, E. (2010). Breeding objectives in forages. En: Boller, B. y Al, E. (Eds.). *Fodder Crops and Amenity Grasses* (pp. 115-136). Springer Science+Business Media, LLC 2010. [https://doi.org/10.1007/978-1-4419-0760-8\\_5](https://doi.org/10.1007/978-1-4419-0760-8_5)
- Cherney, D. J. (2000). Characterization of forages by chemical analysis. En: *Forage evaluation in ruminant nutrition* (pp. 281-300). CABI Publishing.
- Damiran, D., DelCurto, T., Bohnert, D. W. y Findholt, S. L. (2008). Comparison of techniques and grinding size to estimate digestibility of forage based ruminant diets. *Animal Feed Science and Technology*, 141, 15-35. <https://doi.org/10.1016/j.anifeeds.2007.04.007>
- Detmann, E., Valardes Filho, S. C., Pina, D. S., Henriques, L. T., Paulino, M. F., Magalhaes, K. A., Silva, P. A. y Chizzotti, M. L. (2008). Prediction of the energy value of cattle diets based on the chemical composition of the feeds under tropical conditions. *Animal Feed Science and Technology*, 143, 127-147. <https://doi.org/10.1016/j.anifeeds.2007.05.008>
- Dewhurst, R. J., Hepper, D. y Webster, A. J. (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*, 51(3-4), 211-229. [https://doi.org/10.1016/0377-8401\(94\)00692-3](https://doi.org/10.1016/0377-8401(94)00692-3)
- Food and Agriculture Organization-FAO. (2022). *Micotoxinas. Inocuidad y calidad de los alimentos*. <https://www.fao.org/food/food-safety-quality/a-z-index/mycotoxins/es/>
- Fahey, G. C., Novotny, L., Layton, B. y Mertens, D. R. (2019). Critical factors in determining fiber content of feeds and foods and their ingredients. *Journal of AOAC International*, 102(1), 52-62. <https://doi.org/10.5740/jaoacint.18-0067>
- Fernández Pepi, M. G., Moretto, A. S., Zucol, A. F., Arriaga, M. O., Alvarenga, E. C., Stampacchio, M. L. y Escobar, J. M. (2018). Guanacos' and domestic livestock's summer diets comparison in ecotone of "Tierra del Fuego" (Argentina). *Biodiversity International Journal*, 2(5), 425-431. <https://doi.org/10.15406/bij.2018.02.00095>
- Fernández Pepi, M. G., Todarello, M., Wawrzkievicz, M., Alvarez Ugarte, D., Jaurena, G., Álvarez Ugarte, D. y Jaurena, G. (2016). Degradabilidad de tejidos de la vaina de gramíneas en raciones con burlandas (DDGS). Comunicación. *Revista Argentina de Producción Animal*, 36(1), NA4, 192.
- Frasson, M. F., Ramos, M. L., Wawrzkievicz, M. y Jaurena, G. (2017). Incertidumbre de determinaciones analíticas en alimentos voluminosos y concentrados a partir de pruebas interlaboratorio. *Revista Argentina de Producción Animal*, 37(1), NA3, 297.
- Gaggiotti, M., Franco, L. y Tassoni, A. (2020). *Tabla de alimentos para rumiantes*. INTA. UNRAf. <https://play.google.com/store/apps/details?id=edu.unraf.inta>
- Getachew, G., Blummel, M., Makkar, H. P. y Becker, K. (1998). In vitro gas measuring techniques for assessment of nutritional quality of feeds: a review. *Animal Feed Science and Technology*, 72(3-4), 261-281. [https://doi.org/10.1016/S0377-8401\(97\)00189-2](https://doi.org/10.1016/S0377-8401(97)00189-2)
- Jimeno, A. (2009). Revisión de las concentraciones máximas tolerables para ciertas micotoxinas. *Produccion Animal*, 11-3. [https://produccion-animal.com.ar/tablas\\_composicion\\_alimentos/20-micotoxinas.pdf](https://produccion-animal.com.ar/tablas_composicion_alimentos/20-micotoxinas.pdf) [Consultado 22/05/2023]

- Goering, H. K. y Van Soest, P. J. (1970). Forage fiber analysis (apparatus, reagents, procedures and some applications. Laboratory handbook Nr. 379. En: *Agronomy Handbook N° 379*. USDA, Agricultural Research Services.
- Guaíta, M. S. y Fernández, H. H. (2005). *Tablas de composición química de alimentos para rumiantes*. Publicaciones Regionales INTA.
- Hall, M. B. y Mertens, D. R. (2017). A 100-Year review: carbohydrates-Characterization, digestion, and utilization. *Journal of Dairy Science*, 100(12), 10078-10093. <https://doi.org/10.3168/jds.2017-13311>
- Hatfield, R. D., Grabber, J., Ralph, J. y Brei, K. (1999). Using the acetyl bromide assay to determine lignin concentrations in herbaceous plants: some cautionary notes. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47(2), 628-632. <https://doi.org/10.1021/jf9808776>
- Heinrichs, J. (2013). *The Penn State Particle Separator* (pp. 1-8). Penn State Extension. [Consultado 23/05/2023]. [https://edisciplinas.usp.br/pluginfile.php/4116121/mod\\_resource/content/0/penn-state-particle-separator.pdf](https://edisciplinas.usp.br/pluginfile.php/4116121/mod_resource/content/0/penn-state-particle-separator.pdf)
- Jaurena, G. (2011). Programa para el mejoramiento de la evaluación de forrajes y alimentos (PROMEFA). *Archivos Latinoamericanos de Producción Animal*, 19(3-4), 35-37.
- Jaurena, G. y Danelón, J. L. (2006). *Tabla de composición de alimentos para rumiantes de la región pampeana Argentina*. 1ª ed. 200. Hemisferio Sur S. A.
- Jaurena, G., Feksa Frasson, M., Skobalski, J. y Adorni, M. B. (2021). Estimación de la incertidumbre del valor asignado para el ensayo de digestibilidad in vitro en alimentos para rumiantes en una prueba interlaboratorio. Comunicación. *Revista Argentina de Prod. Anim*, 41(1), 217-248.
- Jaurena, G. y Wawrzkiwicz, M. (2016). *Guía de muestreo de alimentos para animales. Aspectos generales*. [https://www.agro.uba.ar/sites/default/files/cisna/jaurena\\_y\\_wawrzkiwicz\\_-\\_cisna\\_-\\_muestreo\\_de\\_alimentos\\_1\\_-\\_aspectos\\_generales\\_2020.pdf](https://www.agro.uba.ar/sites/default/files/cisna/jaurena_y_wawrzkiwicz_-_cisna_-_muestreo_de_alimentos_1_-_aspectos_generales_2020.pdf) [Consultado el 15/12/2022].
- Jaurena, G., Wawrzkiwicz, M. y Caramella, L. (2009). Concordancia entre la producción de gas y la desaparición de sustrato in vitro con sistemas tampón carbonato-bicarbonato y fosfato-citrato. *Revista Argentina de Producción Animal*, 29(1), 185-186.
- Jones, D. I. y Theodorou, D. M. (2000). Enzyme techniques for estimating digestibility. En: *Forage evaluation in ruminant nutrition* (pp. 155).
- Licitra, G., Hernandez, T. M. y Van Soest, P. J. (1996). Standardization of procedures for nitrogen fractionation of ruminant feeds. *Animal Feed Science and Technology*, 57(4), 347-358. <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/0377840195008373>
- Marten, G. C. (1981). Chemical, in vitro, and nylon bag procedures for evaluating forage in the USA. En: Wheeler, J. L. y Mochrie, R. D. (Eds.). *Forage evaluation: concepts and techniques* (pp. 39-55). American Forage and Grassland Council.
- McDonald, P., Edwards, R. A., Greenhalgh, J. F., Morgan, C. A., Sinclair, L. A. y Wilkinson, R. G. (Eds.). (2011). *Animal nutrition*. 7ª ed. Pearson. <http://www.cabdirect.org/abstracts/19701406676.html>
- McL. Dryden, G. (2008). *Animal nutrition science*. CABI International.
- Mehrez, A. Z. y Orskov, E. R. (1977). A study of the artificial fibre bag technique for determining the digestibility of feeds in the rumen. *Journal of Agricultural Science, Cambridge*, 88, 645-650.
- Menke, K. H., Raab, L., Salewski, A., Steingass, H., Fritz, D. y Schneider, W. (1979). The estimation of the digestibility and metabolisable energy content of ruminant feedingstuffs from the gas production when they are incubated with rumen liquor in vitro. *Journal of Agricultural Science, Cambridge*, 93, 217-222.
- Mertens, D. R. (1992). Critical Conditions in determining detergent fiber. *Proceedings of NFTA Forage Analysis Workshop*, C1-C8.
- Mertens, D. R. (1997). Creating a system for meeting the fiber requirements of dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 80, 1463-1481. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(97\)76075-2](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(97)76075-2)
- Mertens, D. R. (2011). Alternative models of digestion and passage: descriptions and practical implications. Department of Animal Science at the New York State College of Agriculture and Life Sciences (A Statutory College of the State University of New York) Cornell University, 154.
- National Research Council-NRC. (2001). *Requirements of dairy cattle*. 7ª ed. revisada. National Academic Press.
- Noziere, P. y Michalet-Doreau, B. (2000). In sacco methods. En: D`Mello (Ed.). *Farm animal metabolism and nutrition* (pp. 233-253). CABI Publishing.
- Ricci, P., Romera, A. J., Burges, J. C., Fernández, H. H. y Cangiano, C. A. (2009). Precision and accuracy of methodologies for estimating in vitro digestibility of *Thinopyrum ponticum* (tall wheatgrass) hay and haylage fed to beef cattle. *Professional Animal Scientist*, 25(5), 625-632. [https://doi.org/10.15232/S1080-7446\(15\)30766-X](https://doi.org/10.15232/S1080-7446(15)30766-X)
- Stern, M. D., Bach, A. y Calsamiglia, S. (1997). Alternative techniques for measuring nutrient digestion in ruminants. *Journal of Animal Science*, 75(8), 2256-2276. <http://jas.fass.org/cgi/content/abstract/75/8/2256>
- Suarez del Cerro, M., Iglesias, B. F., Jaurena, G., Ledur, V. S., Beribe, M. J., Stoppani, C. L., Roldan, M. L. y Carrera, M. J. (2019). *Calidad nutricional de burlanda seca de maíz (DDGS) para cerdos*. INTA Pergamino, 10(39), 76-79.
- Susmel, P. y Stefanon, B. (1993). Aspects of lignin degradation by rumen microorganisms. *J. of Biotechnology*, 30(1), 141-148. [https://doi.org/10.1016/0168-1656\(93\)90035-L](https://doi.org/10.1016/0168-1656(93)90035-L)
- Theodorou, M. K. (1993). A new laboratory procedure for determining the fermentation kinetics of ruminants feeds. *Ciencia e Investigacion Agraria*, 20(2), 332-344.
- Tilley, J. M. y Terry, R. A. (1963). A two stage technique for the in vitro digestion of forage crops. *Grass y Forage Science*, 18(2), 104-111. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-2494.1963.tb00335.x>
- Van Soest, P. J. (1967). Development of a comprehensive system of feed analyses and its application to forages. *Journal of Animal Science*, 26(1), 119-28.
- Van Soest, P. J. (1994). *Nutritional ecology of the ruminant*. 2ª ed. Comstock Publishing Associates, Cornell University Press.

- Van Soest, P. J., Robertson, J. B. y Lewis, B. A. (1991). *Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition*. *Journal of Dairy Science*, 74, 3583-3597. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(91\)78551-2](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(91)78551-2)
- Vogel, K. P. y Jung, H. J. G. (2001). Genetic modification of herbaceous plants for feed and fuel. *Critical Reviews in Plant Sciences*, 20, 15-49. <https://doi.org/10.1080/20013591099173>
- Wilson, J. R. y Mertens, D. R. (1995). Cell wall accessibility and cell structure limitations to microbial digestion of forage. *Crop Science*, 35, 251-259. <https://doi.org/10.2135/cropsci1995.0011183X003500010046x>