UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia

"DETERMINACION DE LOS COEFICIENTES DE DIGESTIBILIDAD DE ALIMENTOS FIBROSOS TRATADOS CON ALCALIS, MEDIANTE EL EMPLEO DEL SESQUIOXIDO DE CROMO EN LA ALIMENTACION DE OVINOS"

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE :

Médico Veterinario Zootecnista

P R E S E N T A :

ESTEBAN JULIAN MIRELES MARTINEZ

México, D.F. 1978

8061

Universidad Nacional Autónoma de México
UNAM
Biblioteca Central
Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

Este trabajó fué patrocinado parcialmente por el Programa Nacional de Alimentación del CONACYT, por el Departamento de Producción Animal de la Universidad Autónoma Metropolitana, Unidad Xochimilco, y por el Instituto Nacional de la Nutrición, en el cual se llevo a cabo la mayor parte de la investigación.

El presente trabajo de investigación se llevó a cabo, bajo la dirección del Dr. Fernando Pérez-Gil Romo.

Mi reconocimiento a la siguientes personas:

Dr. Carlos Peraza Castro

PMVZ. Francisco Guevara Saucedo

Q.F.B. Marcos Francisco Baéz Fernández

Q.F.B. Eduardo Bernal Rodríguez

Mi agradecimiento a los:

Dres. Adolfo Chávez V. y Héctor Bourges R. Jefe de la División de Nutrición del Departamento de Fisiología de la Nutrición y -- Tecnología de los Alimentos respectivamente. Así mismo, a todo el personal de la - División de Nutrición.

C A P I T U L O I

INTRODUCCION

El primer parámetro, que indica el valor nutritivo de un alimento, es el análisis bromatólogico del mismo. Sin embargo, éste método no expresa la cantidad que realmente va a ser aprovechada por el animal. Ha sido ampliamente reconocido, tanto por fisiólogos, como por nutriólogos, el papel que juega el proceso de la digestión, mecanismo a través del cual, los alimentos son fragmentados, por medio de la hidrólisis enzimática, en partículas más pequeñas, con el objeto de facilitar su absorción y su paso a través del tracto gastro-intestinal, dependiendo de la especie animal de que se trate. En base a este conocimiento, es por lo cual, se determina el coeficiente de digestibilidad (CD) de un alimento, entendiendose por digestibilidad, la diferencia entre lo que se consume y lo que se excreta, es decir, lo que realmente es aprovechado por el animal (18, 45 y 46).

Existen varios métodos que sirven para determinar el CD de los alimentos, tales como:

1. Método convencional. Este se basa en recolectar el total de heces excretadas por el animal, durante un período determinado, cuantificar las heces, restar el valor obtenido a la cantidad total de alimento ingerido durante el mismo tiempo y expresar el resultado en porciento. -

Esto mismo, se hace con cada uno de los nutrimentos del alimento, como -- son: proteína cruda, (PC) extracto etéreo (EE), fibra cruda (FC) y extracto libre de nitrogeno (ELN).

2. Total de Nutrimentos Digestibles (T.N.D.). Este método,- está íntimamente ligado al análisis bromatólogico de los alimentos; en- vez de recolectar todas las heces, para saber el porcentaje de alimento - que fué asimilado por el animal, lo que se hace, es determinar el porcentaje de protéina cruda, extracto etéreo, fibra cruda y extracto libre de- nitrogeno de un aliemnto y se multiplica cada uno de ellos por un factor- de digestibilidad, se suman los resultados y se obtiene el T.N.D. (46).

3. Método de los Marcadores o Indicadores. Este método consiste en proporcionar un material indigerible junto con el alimento y calcular los coeficientes de digestibilidad, a través de las relaciones en-- tre el material indigerible y los nutrimentos existentes, tanto en el alimento como en las heces (51).

En la actualidad se conoce una amplia gama de marcadores, los cuales pueden clasificarse de varias formas (41).

A) Elementos
   1) Metales inertes (elementos raros y pesados).
   2) Isótopos naturales (^{40}K).
   3) Isótopos artificiales (^{144}Ce).

B) Compuestos

1) Inorgánicos.

a) Oxidos metálicos (Cr_2O_3, Fe_2O_3, T_iO_2).

b) Sales minerales ($BaSO_4$, CuSCN).

2) Orgánicos.

a) Colorantes naturales (Carmín, Cromógenos).

b) Colorantes sintéticos (azul de metileno, cristal-violeta, azul brillante, fushina básica, azul de-anilina, violeta de antraquinona).

c) Otros (celulosa, lignina, esteroles).

C) Partículas

1) Polímeros (Polietilenglicol, plásticos, vidrio, gomas)

2) Células (levaduras y bacterias).

3) Carbón

4) Partículas metálicas (partículas de aluminio de diferentes tamaños.

5) Otros (semillas, fibra de algodón).

(Kotb y Luckey, 1972)

Los marcadores también han sido clasificados en:

a) Marcadores absorbibles:

1) Algunos son completamente absorbidos del tracto intestinal y recuperados en la orina. Algunas substancias de éste grupo reciben el nombre de marcadores urinarios., también pueden excretarse por el-

sudor, piel e intercambio de gases.

2. Parcialmente absorbibles del tracto intestinal, con - un porcentaje fijo recuperado e inalterado en la orina.

Los marcadores absorbibles se han usado poco por razones prácticas y sólo, bajo ciertas condiciones, pueden ser aceptables para uso -- cuantitativo.

b) Marcadores no absorbibles: Estas substancias no son absorbibles del tracto-gastro-intestinal y pueden ser casi totalmente recuperadas en las heces. Los marcadores comprendidos en ésta categoría, han - recibido el nombre de marcadores fecales, y se han utilizado ampliamente en estudios de digestibilidad por su disponibilidad.

Otra clasificación de marcadores es aquella establecida por - Harris et al, 1967 (31), la cual se basa en que algunos marcadores son -- agregados a la dieta y se les llama marcadores externos, tales como:

a) Partículas
b) Colorantes
c) Oxidos metálicos
d) Sales minerales
e) Marcadores solubles en agua
f) Marcadores radioactivos
g) Bario
h) Metales inertes
i) Microorganismos

Y marcadores que se encuentran naturalmente en la dieta y se-les conoce como marcadores internos:

a) Silice
b) Lignina
c) Nitrógeno fecal
d) Fracción fecal ácido soluble (ASFF)
e) Grupos metoxílicos
f) Fibra

Para que un marcador sea empleado en estudios de digestibilidad y que éste sea efectivo, se deben reunir determinadas características: ser inerte, no tóxico, sin efectos fisiológicos, no ser absorbido del -- tracto gastrointestinal (TGI), ser completamente recuperado de cualquier-tipo de alimento, ya sea fresco o procesado, mezclarse íntimamente con el alimento, quedarse uniformemente distribuído en la ingesta, sin influen-- cia sobre: las secreciones digestivas, digestión, absorción, motilidad - normal del TGI y excreción, no debe influír sobre la microflora del tracto alimentario y determinarse cuantitativamente a través de técnicas -- sencillas (1, 58).

La elección de los marcadores en nutrición, se basa en ver -- cuantas características reune cada uno de éstos, para ser considerado como apropiado; además, la utilización de los marcadores estará determinado por el tipo de estudio que se quiera realizar.

Las perlas de vidrio, semillas pequeñas, plásticos, carbón, - partículas metálicas, ion óxido, sílice, violeta de antroquinona y azul -

de monastral, han sido utilizados para determinar la velocidad de paso del alimento y en general para estudios de digestibilidad (34).

La técnica de partículas teñidas, se ha usado extensamente para medir la velocidad de paso del alimento en rumiantes (40).

Las técnicas microbiológicas basadas en el uso de esporas termófilas de bacterias como la del Bacillus subtiles, para medir el tránsito intestinal son interesantes, pero no se han estudiado suficientemente (25).

El sulfato de bario ha sido usado en el hombre principalmente para determinar la velocidad de paso de los alimentos y en pollos, para conocer la utilización de los alimentos (66).

Algunos marcadores inertes han sido llamados marcadores fecales y han sido usados en estudios de paso y absorción de nutrimentos, incluyéndose en este grupo: ^{144}Ce, ^{16}Sc, ^{47}Sc, ^{95}Zr, ^{140}La, ^{91}Y, ^{106}Ru, y ^{198}Au, pudiendose éstos estimar correctamente por análisis radioactivos (41).

Los marcadores solubles han sido empleados en muchos estudios fisiológicos y nutricionales en el hombre y los animales, entre ellos se han utilizado ampliamente el polietilenglicol (PEG), especialmente en rumiantes para medir el volumen de agua de los diferentes compartimentos y en estuidos de balance de agua. También se han hecho estudios con el cromo-EDTA radiactivo (35 y 64).

Los marcadores internos usados para conocer la eficiencia d

utilización de los alimentos en animales en pastoreo incluyen: silice, - lignina, grupos metoxílicos, fibra, cromógenos, nitrógeno fecal, fracción -fecal-ácido soluble. De éstos, solamente los cromógenos y el nitrógeno- fecal han tenido mayor aceptación en estudios de digestibilidad de forrajes (41).

El óxido de titanio se ha usado en estudios de absorción de - calcio y fósforo y digestibilidad de proteína, estimándose directamente - en las heces y en el alimento (29).

El óxido de cromo (Cr_2O_3) ha sido el más usado como marcador fecal obteniéndose mejores resultados cuando se da al animal en un vehículo apropiado (41).

El empleo de marcadores en nutrición tiene las siguientes -- aplicaciones:

1) Determinar el alimento ingerido por los animales en pastoreo. Es importante saber que las necesidades nutritivas de los animales- en pastoreo, difieren de las que se encuentran en estabulación, teniendo- éstos, menores requerimentos para mantenimiento y además no seleccionan- el forraje, como los que estan en pastoreo (66 y 50).

2) Conocer la velocidad de paso de la ingesta, a través de - todo ó una parte del TGI, ésto tiene gran importancia desde el punto de - vista fisiológico (3 y 44).

3) Determinar el coeficiente de digestibilidad aparente de - un alimento o de un nutrimento específico, en estudios de balance de ni-- trogeno, colesterol, fósforo, calcio, absorción de caroteno, etc; éstos-

estudios se han hecho especialmente en el hombre utilizando el Cr_2O_3, empleándose cada vez más en el campo de la nutrición animal (61 y 65).

Este marcador es un polvo ligero verde y practicamente insoluble en agua, alcohol o acetona pero ligeramente soluble en ácidos y álcalis, de un peso molecular de 151.99 (48).

El primer investigador que utilizó éste marcador en pruebas de digestibilidad fué Edin (1918), quién encontró que al impregnar óxido de cromo en un papel secante y administrarlo al animal en su ración, se simplificaban considerablemente los métodos de determinación de la digestibilidad que habían sido previamente empleados.

El óxido de cromo se administra al animal en varias formas entre las cuales se encuentran:

a) Mezclarse con el alimento o parte de éste a una determinada concentración, según la especie animal de que se trate (36 y 47).

b) Mediante cápsulas de gelatina, administrándose por medio de un tirabolos (37 y 38), o bién, a través de un fístula ruminal (32).

c) Por medio de papel impregnado, ésta técnica fué desarrollada por Corbett, Greenhalgh y MacDonald, 1958 (16).

d) Pelets.- Esta técnica consiste en mezclar a partes iguales, oxido de cromo y yeso, disolviéndose los pelets en el rumen durante cerca de 96 horas (9).

La cantidad de Cr_2O_3 que se desee dar, está relacionada con la especie animal; de forma tal, que se proporciona según la cantidad de materia seca presente en el alimento; así se tiene, que en raciones para rumiantes el óxido de cromo se adiciona a razón de 0,5% (8, 10, 26, 27), - en cerdos, se ha adicionado al 1.5% (49 y 59); la misma concentración - se ha utilizado para ratas (58) y en pollos se ha empleado al 1-2% (59).

La administración del Cr_2O_3 se ha llevado a cabo a través - de diferentes horarios y en diferentes períodos, según las condiciones en que se vaya a desarrollar el estudio; en pastoreo, es frecuente que las - dosificaciones se hagan dos veces al día, en caso de ganado lechero se -- realiza al momento de las ordeñas proporcionándoles el óxido de cromo junto con la ración (36 y 47) cuando el animal ingiere alimento ad libitum, el indicador ya ha sido previamente mezclado (53 y 54). También se puede dosificar una sóla vez al día (19); si se dosifica dos veces al día, se- ha encontrado que lo más conveniente es dar el óxido de cromo a intervalos de 12 horas en bovinos; en ovinos es más conveniente darlo a intervalos desiguales.

En todo ensayo de digestibilidad, es necesario que los animales se sometan a un período de acostumbramiento, éste consistirá en proporcionarle al animal el alimento que se desea estudiar, siendo el período variable según la especie. Esto tiene como finalidad, eliminar del -- TGI los últimos resíduos alimenticios procedentes de los alimentos que el animal había estado consumiendo hasta antes del inicio del estudio; así se tiene, que en monogástricos generalmente los procesos de digestión y evacuación terminan en 24 horas y en caso de rumiantes el tiempo es más amplio, siendo en ovinos de 72 a 96 horas después de la ingestión, cuando-

aparecen los últimos resíduos alimenticios en las heces (44); en bovinos, éstos aparecen en las excretas a las 150 a 200 horas después de la ingestión del alimento (36).

Otro objetivo del período de acostumbramiento, es estandarizar la cantidad de alimento que ingieren los animales, si éstos van ha ser alimentados ad libitum.

El período de acostumbramiento, en el caso del ganado bovino de carne y leche, es generalmente de 7 a 10 días (54), otros investigadores lo hacen con una duración de 20 días (53), y algunos otros lo hacen de 13 días (19).

Una vez que los animales en estudio se han acostumbrado a la dieta, se les suministra por un determinado tiempo el óxido de cromo, dependiendo del estudio que se vaya a realizar. Si se estudia la velocidad de paso del alimento a través del TGI, se le suministra al animal una sola dosis del marcador (44); para estudios donde se va a determinar el coeficiente de digestibilidad, generalmente se administra durante 8 días a una hora determinada, en una o dos dosis; en ovejas se ha dosificado una sola vez al día (17).

En animales en pastoreo, es recomendable evitar el excesivo manejo en las dosificaciones (44); en bovinos en estabulación, es deseable dar el indicador a intérvalos de 12 horas, en ovinos a las 9 y 15 horas (50).

En la determinación del coeficiente de digestibilidad aparente, por la técnica de la relación de la concentración del indicador y n

trimentos en la dieta y en las heces, se han diseñado varios tipos de muestreo, para evitar la recolección total de las heces excretadas por el animal.

Varios autores, vieron la conveniencia de señalar horarios de muestreo, sobre todo, cuando se trabaja con especies de gran talla y también por la necesidad de captar las variaciones diurnas que se presentan cuando se utiliza óxido de cromo (39), con la idea de obtener un valor -- que en realidad, represente el porcentaje del marcador eliminado por el - animal a través de las heces, con el objeto de relacionarlo con la cantidad que originalmente fué ingerida.

Los horarios de muestreo que se han empleado, se realizan tomando generalmente las muestras directamente del recto del animal, de éstos los más comunes son:

1) Muestrear cada dos horas por dos días consecutivos, previo acostumbramiento de los animales (32 y 54). Generalmente el muestreo se lleva a cabo los dos últimos días del estudio.

2) Colección total de las heces, por 7 u 8 días, con el fin de determinar el coeficiente de digestibilidad y sobre todo para conocer el porcentaje de recuperación del óxido de cromo; para el CD se hace una alícuota, tomando de cada día de colección 5% de las heces, para realizar el análisis (12 y 13). Esto se hace a nivel experimental y no en condiciones prácticas de manejo.

3) Muestreo de las heces en determinadas horas del día, ya - que estudios realizados por varios investigadores, han podido determinar-

la hora precisa en la cual se pueden captar las variaciones diurnas de la excreción del óxido de cromo. Cuando se muestrea a las 7 y 8 am; 4 y 5 pm; 1 y 2 pm se han obtenido resultados iguales a los del método convencional; cuando se realiza el muestreo entre las 10 y las 12 horas y entre las 14 y 16 horas del día durante tres días (41), el sistema ha sido criticado, debido a que las variaciones de excreción del óxido de cromo tienden a variar, debido a los cambios en la forma y conductos alimenticias; además el paso a través del TGI es irregular, como se manifiesta con las variaciones que se presentan en la excreción de la lignina, a pesar de ser un marcador natural (26).

También se ha muestreado a las 7.30 am y 7.30 pm. por 5 días obteniéndose buenos resultados(63). En un estudio sin publicar se obtuvierón buenos resultados al muestrearse cada 4 horas durante 6 días consecutivos (52).

Una de las características fundamentales que debierán tener los marcadores que se utilizan en estudios de digestibilidad, es la de ser completamente recuperados en las heces. El óxido de cromo ha sido empleado en varios estudios convencionales, recolectándose las heces totalmente por un período de 7 a 10 días y recuperándose casi el 100% del indicador. Solamente pocos investigadores reportan recuperacioens del cien por ciento como son: Bolin et al, 1952 (7); Davis et al, 1958 (23); Schurch et al, 1952 (59); Corbett, Greenhalgh y MacDonald, 1955 (16) Mediante el óxido de cromo radiactivo (^{51}Cr), la recuperación en un cien por ciento se consigue con más facilidad (24 y 63).

La teoría del método de marcadores para la determinación del-

CD ha sido discutida por Bergeim, 1926 (4), Stanley y Cheng, 1957 (62) y Kleiber, 1961 (42). Como ha sido subrrayado por Kleiber, si I ingestión diaria de alimento, F=cantidad de heces excretadas por día y Ai y Af= concentración del indicador en el aliemnto y en las heces respectivamente, - entonces la cantidad del indicador por día es = I.Ai y la cantidad de indicador excretada diariamente = F.Af. Ya que el indicador es indigeri-- bie, la cantidad excretada debe ser igual a la cantidad ingerida. Entonces, I.Ai=F.Af ó F/I=Ai/Af. La ecuación para la digestibilidad aparente (D) es D=(I-F)/I=1-f/I ó reemplazando F/I por Ai/Af, D=1-Ai/Af. Por lo tanto, la digestibilidad aparente es igual a uno menos la relación de la -- concentración del indicador en el alimento y en las heces. Las derivaciones antes descritas, están hechas para materia seca, tanto del alimento - como de las heces, por lo tanto la digestibilidad esta dada en base a materia seca.

Para determinar la digestibilidad de cada nutrimento del alimento se toma en consideración lo siguiente: Por ejemplo, con respecto - al nitrógeno. Si Ni y Nf = concentración del nitrógeno en el alimento y- en las heces en base a materia seca, entonces:

I. Ni=ingestión diaria de nitrógeno y F.^{N}f=excreción diaria - de nitrógeno. Entonces la digestibilidad aparente del nitrógeno es:

$$(I.ni-nf)/I.ni=1-F.Nf/I.Ni$$

Entonces F/I puede ser reemplazado por el cociente de las concentraciones del indicador. Ai/Af; por lo tanto, Dn=1-Nf/Ni X ^{A}i/Af, -- donde Dn=Digestibilidad aparente del nitrógeno. Por lo tanto, el porcen-

taje de la digestibilidad aparente de un nutrimento conocido, se determina a través de la siguiente fórmula:

Digestibilidad =100-100 (%indicador en el alimento)/(%indicador en las heces) X (%nutrimento en las heces) /(% de nutrimento en el alimento)

Estas aseveraciones se basan, en que el indicador es completamente inerte y no es absorbido y que después de alcanzar el equilibrio, - la excreción del marcador es igual a la ingestión del mismo (41 y 42).

Cuando el indicador es ingerido, su contenido en las heces se eleva de cero a un valor constante en un individuo recibiendo una dieta - en particular. El tiempo necesario para que un marcador aparezca en las- heces y alcance una excresión constante (incluyendo las variaciones) de-- penderá en parte de la dieta y en parte del individuo, por lo que es importante un período de ajuste, antes de iniciar el período experimental.- (44 y 65).

Como se puede apreciar, el empleo de marcadores en nutrición, se realiza para conocer varios aspectos relacionados con la alimentación- animal; principalmente para conocer en forma adecuada los CD de diferentes alimentos y de cada uno de los nutrimentos de éstos, tanto de animales en estabulación como en pastoreo y conocer la cantidad de alimento ingerido por estos últimos:

Sin embargo, los investigadores en México no han empleado estos marcadores, porque las técnicas no han tenido difusión.

En México, la digestibilidad de los alimentos generalmente se ha llevado a cabo a través del método convencional, lo mismo que por el - método in vitro.

Por lo anterior, éste trabajo tuvo como objetivos los siguientes:

1. Dar a conocer a los interesados en el campo de la nutrición animal, una metodología a seguir en la determinación de los CD, por- medio del empleo del óxido de cromo como marcador en el alimento y en las heces fecales.

2. Corroborar las variaciones en la excreción del óxido de - cromo, según ha sido reportado por diversos autores, y la necesidad de -- captar éstas para tener un máximo de seguridad en la determinación del CD.

3. El estudio se realizó en rumiantes, porque éstos tienen - la capacidad de aprovechar mediante la flora y fauna ruminal grandes cantidades de fibra cruda, principio nutritivo que se encuentra en gran proporción en la paja de arroz y rastrojo de maíz.

4. Determinar los CD de dietas ricas en FC tratados con un - álcali, en donde la fuente de ésta, estuvo representada por esquilmos agrícolas, constituyendo a veces la única fuente alimenticia para rumiantes a nivel de pequeño productor.

5. Una vez conocidos los CD de éstas dietas servirán de base para investigar la proporción óptima de una mezcla de: esquilmos -- agrícolas altamente fibrosos, melaza y urea y que tenga un mejor coeficiente de digestibilidad.

C A P I T U L O II

MATERIAL Y METODOS

Esta investigación se desarrolló en las instalaciones del Departamento de Fisiología de la Nutrición y Tecnología de los alimentos, - de la División de Nutrición, Instituto Nacional de la Nutrición y en el - Departamento de Producción Animal, División de Ciencias Biológicas y de - la Salud, Universidad Autónoma Metropolitana, Unidad Xochimilco.

1. Material

1.1 Reactivos

1.1.1. NaOH al 5%

1.1.2 $C_{r2}O_3$ (sesquióxido de cromo)

1.1.3 H_2SO_4 concentrado

1.1.4 ácido perclórico 70%

1.1.5 ácido nítrico concentrado

1.1.6 Molibdato de sodio

1.2 Alimentos

1.2.1 8 pacas de rastrojo de maíz de 20 Kg cada una

1.2.2 160 kg de paja de arroz

1.2.3 40 kg de concentrado comercial para ovinos

1.2.4 50 kg de melaza

1.3 Equipo

1.3.1 Matraces Kjeldahl de 100 ml

1.3.2 Parrillas del digestor del microkjeldahl

1.3.3 Espectrofótometro Baush and Lomb

1.3.4 Cápsulas de gelatina de 00

1.3.5 1 tira bolos

1.3.6 200 bolsas de polietileno

1.3.7 Báscula de 200 kg de capacidad

1.3.8 Báscula de 5 kg de capacidad

1.3.9 Comederos de madera y bebederos individuales

1.3.10 Local de estabulación

1.4 Animales

1.4.1 6 ovinos cruzados criollo x hamshire de 25 kg de peso vivo y de 4 meses de edad.

2. Metodología

2.1 Análisis bromatólogico de cada uno de los alimentos utizados, conforme a las técnicas establecidas por el AOAC, 1968 (2), cuya composición aparece en el cuadro I.

2.2 Hidrólisis del forraje y elaboración de las raciones.

2.2.1 Hidrólisis del rastrojo de maíz y paja de arroz.- Uno de los procesos a través del cual se puede aumentar la digestibilidad de la materia seca de forraje, con un alto contenido de celulosa y lignina, es el químico, en el cual se trata el forraje con NaOH a diferentes concentraciones. Klopfrenstein et al, lo utilizarón al 5% (43); Fernandez Carmona y Greenhalgh al 18% (28); Reverón y Topps lo emplearón a con

centraciones del 8 y 10% (57), para así obtener un alimento de un mayor - valor energético, puesto que como lo señalan Crampton y Maynard,(20); el- valor de los alimentos para rumiantes, depende fundamentalmente de la relación lignina/celulosa presente en ellos, ya que la lignina está unida - física y químicamente a la celulosa, impidiendo que ésta sea hidrolizada- por los microorganismos del rumen (20).

La hidrólisis de la paja de arroz y del rastrojo de maíz , se llevó a cabo mediante una solución de NaOH al 4%, concentración que utilizarón Calderón, Rojas, Shimada y Peraza, 1975 (11); de tal manera, que a 800g de NaOH se les agregó agua suficiente para completar 20 litros; mezclando está solución con 14 Kg del forraje correspondiente.

2.2.2 Elaboración de las raciones.

Se elaboraron dos raciones cuya fuente de fibra cruda fué en la ración 1, paja de arroz hidrólizada y en la ración 2, rastrojo de maíz hidrolizado; los alimentos utilizados en la elaboración de cada una de - las raciones aparece en el cuadro II.

2.3 Análisis bromatólogico de las raciones.

Se realizó el análisis bromatólogico de cada ración, conforme a las técnicas del AOAC y cuya composición aparece en el cuadro III.

2.4 Período de alimentación y de acostubramiento.

Los 6 ovinos se separaron en forma individual, integrándose -

CUADRO I

ANALISIS BROMATOLOGICO DE LOS
ALIMENTOS UTILIZADOS EN LAS RACIONES

Alimento	Proteína %	Extracto eteréo %	Fibra cruda %	Cenizas %	ELN %	Materia seca %
Paja de arroz hidrolizada	2.00	1.82	38.11	20.21	37.86	58.00
Rastrojo de maíz hidrolizado	2.90	1.80	42.60	11.22	41.48	44.38
Melaza	4.00	--	--	11.46	84.53	75.00
Concentrado	12.39	3.33	8.65	6.39	69.97	90.35

CUADRO II

COMPOSICION DE LAS RACIONES UTILIZADAS

RACION 1		RACION 2	
Paja de arroz hidrólizada	53.33	Rastrojo de maíz hidrólizado	53.33
Melaza	26.66	Melaza	26.66
Concentrado	20.00	Concentrado	20.00

CUADRO III

ANALISIS BROMATOLOGICO DE LAS RACIONES

	Ración 1 Paja de arroz hidrólizada	Ración 2 Rastrojo de maíz hidrólizado
	%	%
PROTEINA	5.30	6.03
EXTRACTO ETEREO	1.69	1.66
FIBRA CRUDA	19.39	18.84
CENIZAS	14.05	9.87
E L N	59.62	63.75
MATERIA SECA	69.03	61.73
HUMEDAD	30.97	38.27

*Estas raciones no cubren los requerimentos diarios para animales ovinos de 25 kg de peso y 4 meses de edad; si no que éstas raciones sólo fuerón usadas para estudiar su digestibilidad a través del método de marcadores.

en dos grupos de 3 animales cada uno, con el objeto de poder controlar, - tanto el alimento ingerido como para facilitar la recolección de las ex-- cretas.

2.4.1 Período de alimentación.

El período de alimentación fué de 18 días, ofreciendo el alimento diariamente a las 14 horas y pesando los resíduos al día siguiente. En el comedero se mezclarón perfectamente, 800g de forraje hidrólizado, - con 400 g de melaza y 300 g de concentrado, agregándo un poco de agua para facilitar el mezclado. El consumo de alimento de cada ovino por día - se índica en el cuadro IV.

2.4.2 Período de acostumbramiento.

El período de acostumbramiento fué de 10 días (54), durante - el cual se estandarizó el consumo de alimento de cada animal, para lograr también que el TGI estuviera libre de resíduos alimenticios, de la dieta- que estaban consumiendo antes del período de acostumbramiento.

2.5 Administración del Cr_2O_3 a los animales

La administración de Cr_2O_3 fué de 8 días, se proporcionaron- 5 g. del marcador en cuatro cápsulas de gelatina por medio de un tirabo-- los a cada animal diariamente a las 14 horas, tan pronto como terminó el período de acostumbramiento de 10 días (37 y 38).

Esta cantidad de óxido de cromo se relacionó con el contenido de materia seca del alimento consumido diariamente, por cada uno de -

CUADRO IV

CANTIDAD DE ALIMENTO CONSUMIDO
EN BASE A MATERIA SECA

N° OVINO	g de alimento consumido/día materia seca.
1	689.930
2	999.485
3	965.020
4	913.600
5	876.566
6	672.857

los animales; de tal manera, que el Cr_2O_3 representó aproximadamente,- el 0.5% de la materia seca (8, 10, 26, 27).

2.6 Período de muestreo.

El tiempo de muestreo fué similar al que siguierón Cross, Boling y Bradley, 1973 (8, 21, 26, 43) tomando las muestras a dos horas de - intervalo por 48 horas consecutivas en los últimos dos días de administración del Cr_2O_3 ; empezando a las 3pm del día 16 y terminando a la 1 pm- del día 18.

Se tomarón aproximadamente 25 g. de heces frescas directamente del recto del animal y colocadas en bolsas de polietileno; inmediatamente se deshidratarón las muestra en una estufa de aire forzado a 90°C,- para conservarse posteriormente, en un lugar fresco y seco hasta realizar los análisis químicos correspondientes.

2.7 Técnica de determinación del Cr_2O_3 en el laboratorio.

En el laboratorio se realizó la determinación del Cr_2O_3 de - cada una de las muestras por duplicado, según la técnica de Hill y Andersón 1958 (58) modificado por Czarnocki 1962 (22).

2.7.1 Reactivos.

1) Acido nítrico concentrado

2) Mezcla digestora. Esta se prepara de la siguiente manera: 10 g de molibdato de sodio son disueltos en 150 ml de agua destilada, -- 150 ml de ácido súlfurico concentrado son añadidos lentamente a la solu--

ción que se está enfriando en un baño con hielo, posteriormente 200 ml de ácido perclórico 10% son añadidos lentamente moviendo frecuentemente.

2.7.2 Procedimiento.

2.7.2.1 Se pesa aproximadamente 1 g de muestra en un papel - filtro y se transfiere a un matraz kjeldahl de 100 ml.

2.7.2.2 Se adicionan 10 ml de ácido nítrico concentrado, dejándolo toda la noche.

2.7.2.3 Permitir secar sobre las parrilas del digestor del - microkjeldhal aproximadamente 15 minutos.

2.7.2.4 Adicionar 15 ml de mezcla digestora y digerir sobre- el digestor, hasta que el color cambie a un amarillo o naranja, según la- concentración del Cr_2O_3 y dejar que la digestión continué por 15 minutos para asegurar una ácidez constante y un máximo desarrollo de color.

2.7.2.5 Permitir que se enfrie el matraz y llevar a 500 ml - con agua destilada, que representa la solución total problema.

2.7.2.6 Permitir que se forme un precipitado de un material- inórganico dejándolo toda la noche.

2.7.2.7 Filtrar aproximadamente 50 ml, representando ésta -- cantidad, el punto de partida para leer en el espectrofótometro.

2.7.2.8 Preparación de una alícuota a base de solución fil-- trada problema y H_2SO_4 0.18 M.

2.7.2.9 Leer a una densidad óptica de 350 mu en el espectrofótometro.

2.7.3 Elaboración de la curva tipo de Cr_2O_3.

La elaboración de una curva estándard, es con el fín de tener un patrón de referencia, para determinar la cantidad de Cr_2O_3 presente en una muestra problema.

2.7.3.1 La curva estándard se hizo en base a 12 determinaciones del marcador, a partir de cantidades conocidas de Cr_2O_3.

a) Se pesan 0.050 g de marcador exactamente en un papel filtro.

b) Se pesa una determinada cantidad de heces libres de Cr_2O_3, aproximadamente de 1 a 2 gramos.

c) El papel filtro, marcador y heces se tranfieren a un matraz kjel-dahl de 100 ml.

d) Se procesan de acuerdo a la técnica ya descrita; es decir, se llevan a cabo los puntos 2.7.2.1 al 2.7.2.7.

2.7.3.2 De cada solución problema de las 12 cantidades de Cr_2O_3 procesadas, se hacen diluciones tomando: 0.5, 1.0, 1.5, 2.0, 2.5, 3.0, 4.0, y 5.0 ml, llevandose a 10 ml con ácido sulfúrico .18 M, el cual, se prepara poniendo en un matraz aforado de dos litros aproximadamente 500 ml de agua destilada y se depositan lentamenteo 19.98 ml. que resvalen por la pared del matraz para evitar quemaduras de H_2SO_4 concentrado, posteriormente se afora a dos litros con agua destilada.

2.7.3.3 Preparación simultánea de un blanco de reactivos para ajustar a 100% de transmitancia el espectrofótometro, antes de leer las diluciones alicuotas; es decir, se procesan heces libres de Cr_2O_3 y reactivos de acuerdo a la técnica.

2.7.3.4. Lecturas de las diluciones alícuotas de las soluciones problema a 350 mu de densidad óptica.

2.7.3.5 Los valores obtenidos se graficarón para hacer la curva tipo.

2.7.4 Determinación del porcentaje de recuperación del Cr_2O_3 en el laboratorio.

A cantidades conocidas de heces fecales libres del marcador, se les agregó una determinada cantidad de Cr_2O_3, que fué de 0.02 a 0.07g de marcador, para así determinar en base a la curva tipo, el porcentaje de recuperación, haciéndose este, en base a 7 determinaciones conforme a la técnica ya descrita.

2.8 Determinación del Cr_2O_3 presente en las muestras de heces fecales obtenidas de los ovinos en experimentación.

2.8.1 Determinación del Cr_2O_3 presente en 144 muestras fecales por duplicado, para obtener la excreción media del marcador de cada uno de los ovinos.

2.8.2 De las 24 muestras de cada ovino, se hizó una alícuota tomando 2 gramos exactamente de cada muestra, se homogeneizarón perfecta-

mente para determinar; porcentaje de las fracciones por medio del análisis bromatológico de la muestra resultante.

C A P I T U L O III

RESULTADOS

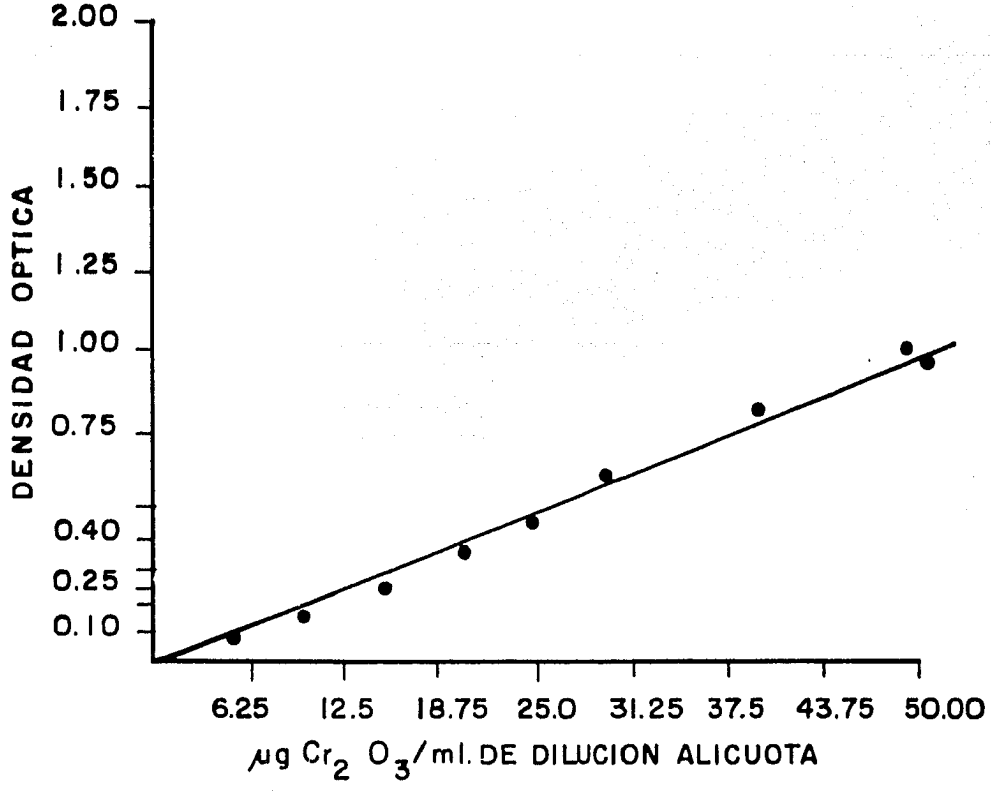
La curva tipo se elaboró, en base a los resultados obtenidos,- al procesar 12 muestras de heces fecales libres de cromo, a las cuales se- les agregó 0.050g de Cr_2O_3, con el fin de obtener la curva stándard; y así, tener un patrón de referencia para cuantificar la cantidad de marcador que se encuentra en muestras problema, cuyo contenido en Cr_2O_3 se desconoce.

En el cuadro V se expresan; en la primera columna, la cantidad- de Cr_2O_3 que fué añadida a cada una de las muestras de heces fecales, en - la segunda columna, la cantidad de heces fecales libres de marcador utili- zadas, las siguientes columnas indican la cantidad de solución problema -- que fue tomada y llevada a 10 ml con H_2SO_4 .18M., y en la parte inferior,- se muestra el porciento de transmitancia que le corresponde a cada dilu- - ción alícuota (solución problema H_2SO_4 .18 M.) que fue leído directamente en un espectrofotometro Baush and Lomb.

En la parte inferior del cuadro, se expresan los promedios de - transmitancia, y abajo se índica la densidad óptica (D.O.) que le corres-- ponde a cada promedio, elaborándose con ésta D.O. la curva tipo que apare- ce en la gráfica 1.

En la gráfica 1, se indica la curva tipo; en cuyas abscisas se-

GRAFICA Nº 1
CURVA TIPO DE Cr_2O_3



CUADRO V

PORCIENTOS DE TRANSMITANCIA Y DENSIDAD OPTICA, OBTENIDOS AL LEER LAS DILUCIONES ALICUOTAS EN EL ESPECTROFOTOMETRO

Matraz	g Cr_2O_3	g heces	ml de la solución problema							
			0.5	1.0	1.5	2.0	2.5	3.0	4.0	5.0
1	0.050	1.0504	77.00	69.0	50.1	41.9	33.0	26.3	16.1	11.0
2	0.050	1.0030	79.0	67.0	52.2	40.1	29.0	24.9	17.9	11.0
3	0.050	1.0500	85.0	69.9	55.0	47.9	37.0	32.1	15.1	10.1
4	0.050	1.5000	83.2	67.1	57.1	47.2	39.0	31.0	20.1	10.1
5	0.050	2.0000	78.0	75.1	50.0	40.0	36.1	24.9	13.1	12.0
6	0.050	3.0000	83.5	66.1		48.0		30.0	16.1	
7	0.050	1.0000	79.0	64.5		37.5		25.0	19.9	
8	0.050	1.0010	81.1	67.1		39.7		27.5	18.0	
9	0.050	1.0040		67.1	60.1	45.4	32.1	21.9	15.0	10.1
10	0.050	1.050			58.1	44.0	32.3		15.5	9.9
11	0.050	1.0040			55.0	40.0			17.4	9.9
12	0.050	1.3350			57.1	37.5			18.1	11.0
X%	TRANSMITANCIA		80.72	68.26	54.94	42.47	34.07	27.06	16.95	9.61
	Densidad óptica (D.O.)		.093	.166	.260	.372	.469	.567	.772	.971

Estos valores de D.O. se graficarón obteniendose la curva tipo de la gráfica 1

expresan los ug de Cr_2O_3 por ml de la dilución alícuota que se utilizó; en el eje de las ordenadas se señala la D.O. de las diluciones léidas en el - espectrofotómetro a 350mu. El contenido de óxido de cromo comprendido en- la curva de referencia, cubre el rango de 0 a 50ug por ml. de dilución alí cuota.

Es decir, en la curva tipo se conoce la densidad óptica para -- una determinada cantidad de solución problema y de ésta se deduce el conte nido de Cr_2O_3; puesto que se procesarón 0.050g de marcador y ésta cantidad se encuentra contenida en los 500ml totales de solución problema, asi se - tiene, que cada ml de solución problema contiene. .0001g de Cr_2O_3 igual - a 0.1 mg de Cr_2O_3/ml de solución problema.

Como la cantidad mayor que se tomó, para hacer la dilución alí- cuota de 10ml, fue de 5ml, como se expresó en el cuadro V; por lo tanto, - la dilución alícuota contiene 0.5mg/10ml de dilución y por ml contiene - 0.05mg, igual a 50ug/ml, cantidad que quedó comprendida en el rango que cu bre la curva de referencia de la gráfica 1.

Así se tiene, que cuando se procesan muestras cuyo contenido de marcador se desconoce, al analizarlas, se conocerá la D.O. de las diluciones alícuotas obtenidas de la solución problema de la muestra analizada;- por lo tanto, en la curva tipo, se puede determinar el contenido de Cr_2O_3- que le corresponde a esa densidad óptica y por consiguiente a la cantidad- de muestra problema.

2. PORCENTAJE DE RECUPERACION DEL Cr_2O_3 EN EL LABORATORIO

El porcentaje de recuperación indica, hasta que punto se está trabajando correctamente en el laboratorio, o bién, que tan exacta es la técnica empleada, ya que al conocerse la cantidad de Cr_2O_3 procesada, ésta debe ser igual a la determinada en base a la curva tipo de Cr_2O_3.

El porcentaje de recuperación de Cr_2O_3 se llevó a cabo análizando nueve muestras con heces libres de Cr_2O_3 y cantidades conocidas del mismo.

En el cuadro VI, se indica el porciento de recuperación obtenido en el laboratorio; en la primera columna, se expresan las cantidades de marcador utilizado, en la segunda, la cantidad de heces agregadas, en la tercera, los g de marcador recuperado o determinado y en la cuarta, el porcentaje de Cr_2O_3 recuperado; así también, se indica en el cuadro, el total de Cr_2O_3 empleado en las nueve muestras, el total de gramos del marcador recuperado o determinado y la media de recuperación del óxido de cromo.

Para calcular el porcentaje de recuperación, se toman en cuenta varios puntos que a continuación se indican; considerando como ejm. la muestra No. 2 mencionada en el cuadro VI se tiene que:

1) La cantidad de óxido de cromo análizada fué de 0.050g; la cantidad de heces fecales libres de marcador agregada fue de 1.3400g; al procesarse de acuerdo a la técnica ya descrita, se tiene como volumen total de solución problema 500ml., de éstos se tomaron 2ml., colocándose en un tubo de ensaye "a" de 25ml y en otro tubo "b" se colocarón 4ml de solución problema, ambos tubos se llevaron a 10ml con H_2SO_4 .18M. para tener -

CUADRO VI

PORCENTAJES DE RECUPERACION DE Cr_2O_3 EN EL LABORATORIO

Matraz	g Cr_2O_3	g heces	g de Cr_2O_3 recuperado	% de Cr_2O_3 recuperado
1	.0500	1.3762	.05168	103.36
2	.0500	1.3400	.04800	96.00
3	.0500	1.0558	.51200	102.40
4	.0500	1.1635	.04874	97.48
5	.0551	1.0778	.05665	102.83
6	.0766	1.0466	.06719	87.72
7	.0304	1.0295	.31990	105.26
8	.0508	2.2256	.04929	97.04
9	.0222	2.2418	.02209	99.54
TOTAL	.4351		.42683	$\bar{X}$ 99.07

una dilución alícuota.

2) De los tubos "a" y "b" se toma una cantidad y se lee directamente en el espectrofótometro, y en base a las lecturas se obtienen los siguientes datos:

a) El porciento de transmitancia del tubo "a" fué de 43.40%, -- siendo en el "b" de 18.60%; correspondiéndole por lo tanto, al tubo "a" - .363 D.O. y al "b" .731 de D.O.

b) En la curva tipo (gráfica 1) a éstas densidades ópticas, les corresponden 19.28 ug de Cr_2O_3 y 38.68 ug de marcador respectivamente.

3) Como los ml. tomados de la solución problema, se llevarón a- 10ml., por lo tanto, los ug. determinados en la curva tipo, se multiplican por 10, de donde se tiene que, el tubo "a" contiene 192.8 ug de Cr_2O_3/2 ml de solución problema y el tubo "b" contiene 386.8ug de marcador /4ml de la misma solución.

4) El contenido total de óxido de cromo de la solución problema se calcula de acuerdo a la siguiente formula:

$$\text{ug } Cr_2O_3 = \frac{\text{Volumen total de solución problema.} \times \text{ug de } Cr_2O_3 \text{ que contiene la dilución alícuota.}}{\text{Volumen tomado de la solución problema y llevado a 10 ml.}}$$

Es decir, en base a los 2ml del tubo "a" se tiene que:

$$\frac{\text{500ml solución problema X192.8 ug } Cr_2O_3}{\text{2 ml}} = \text{48350 ug } Cr_2O_3$$

Y el tubo "b" se tiene que:

$$\frac{\text{500 ml solución problema X 386.8 ug } Cr_2O_3}{\text{4 ml}} = \text{48350 ug } Cr_2O_3$$

5) Se suman los resultados de los tubos "a" y "b" para tener el promedio, es decir:

48200 ug Cr_2O_3
48350 " "
96550 /2 = 48275 ug Cr_2O_3
= .048275 g Cr_2O_3

6) De la cantidad recuperada, se ve que porcentaje representa el Cr_2O_3 procesado y se tiene el % de recuperación, o sea:

$$\frac{\text{g de } Cr_2O_3 \text{ recuperados X 100}}{\text{g de } Cr_2O_3 \text{ procesados}} = \text{\% de recuperación de } Cr_2O_3$$

O sea:

$$\frac{.048275 \text{ g } Cr_2O_3 \text{ recuperados X 100}}{.050 \text{ g } Cr_2O_3 \text{ procesados}} = 96.20\% \text{ de } Cr_2O_3 \text{ recuperados.}$$

En igual forma, se determinó el porcentaje de recuperación de las demás muestras procesadas como ha sido indicado en el cuadro V I.

3. DETERMINACION DEL PORCENTAJE DE Cr_2O_3 PRESENTE EN LAS HECES FECALES DE OVINOS, EN 144 MUESTRAS OBTENIDAS DURANTE LA ETAPA EXPERIMENTAL.

a) Se pesarón aproximadamente 1g de cada muestra en un papel -- filtro, se transfirió a un matraz Kjeldhal y se analizó de acuerdo a la técni

ca de Czarnowcki et al. (22).

b) Se leyó en el espectrofotómetro Bausch and Lomb a 350 mu la solución problema, haciendo una dilución alícuota con H_2SO_4 .1EM., y ajustando a 100% de transmitancia con un blanco de reactivos; éste blanco de reactivos, se conservó durante la etapa experimental, para ajustar el espectrofotómetro cada vez que se analizaban muestras problema.

c) Se siguen los pasos 1, 2, 3, 4 ya descritos en páginas anteriores, para calcular la concentración de óxido de cromo siguiéndolos en la misma forma, es decir:

1) g. de heces fecales analizadas
2) Porcentaje de transmitancia de la dilución alícuota
3) Densidad óptica
4) ug que correspondan a esa densidad óptica
5) Multiplicar por los ug determinados en la curva tipo
6) Aplicar la formula:

$$\text{ug de } Cr_2O_3 = \frac{\text{ml ó Volumen total de solución problema} \times \text{ug de } Cr_2O \text{ que contiene la dilución alícuota}}{\text{ml tomados de la solución problema}}$$

Posteriormente, éste resultado se relaciona con la cantidad de muestra que se procesó, para tener el porcentaje de la concentración de Cr_2O_3 presente en esa muestra.

$$\frac{\text{ug de } Cr_2O_3 \text{ presente en la muestra} \times 100}{\text{ug de muestra de heces fecales problema procesada}} = \%\text{ de } Cr_2O_3 \text{ en la muestra de heces fecales}$$

En el cuadro VII se expresan: en la primera columna, el porcentaje de Cr_2O_3 en relación a la materia seca consumida por el animal correspondiente; en la segunda columna, se expresa la media de la concentración de Cr_2O_3 en % en 24 muestras análizadas, que corresponde a las muestras obtenidas durante 48 horas consecutivas de muestreo, con intervalos de 2 horas, durante los dos últimos días del período experimental, de acuerdo al horario propuesto por Cross et al. (21).

3.1 Los análisis bromatológicos de las muestras, se realizarón, a través de la alícuota de heces fecales, según la técnica del AOAC (1968).

En el cuadro VIII se indican los análisis bromatológicos de las heces de cada ovino en base a materia seca para el grupo 1, paja de arroz-hidrólizada y para el grupo 2, rastrojo de maíz hidrólizado.

4. VARIACIONES DIURNAS EN LA EXCRECION DE Cr_2O_3

Como se sabe, la excreción del óxido de cromo no es constante,-puesto que se presentan variaciones, manifestándose marcadamente en el período diurno del día, como ha sido señalado por varios autores(44, 47, 53)

Los porcentajes de excreción del marcador presentes en las 24 - muestras de cada ovino, se graficarón, para observar las variaciones en la excreción del Cr_2O_3.

Las gráficas 2 y 3 indican las variaciones presentadas en el -- grupo 1, paja de arroz hidrólizada y en el grupo 2, rastrojo de maíz hidrólizado respectivamente. En el eje de las x se marca la hora de excreción del marcador; es decir, el tiempo en que se tomó la muestra; y en el eje -

CUADRO VII

PORCENTAJES DE OXIDO DE CROMO PRESENTE EN LAS HECES Y EN RELACION A LA MATERIA SECA CONSUMIDA

Ovino	% de Cr_2O_3 en relación a la M.S.- consumida	$\bar{X}$ de la concentración de Cr_2O_3 en % de- 24 muestras
1	0.724	2.25
2	0.500	1.80
3	0.518	1.46
4	0.547	1.45
5	0.570	1.83
6	0.743	2.86

CUADRO VIII

ANALISIS BROMATOLOGICO DE LAS HECES EN BASE SECA

Fracciones	Grupo 1, Paja de arroz hidrólizado Ovino			Grupo 2, Rastrojo de maíz hidrólizado Ovino.		
	1	2	3	4	5	6
Proteina	11.95	11.49	11.84	11.09	13.99	15.66
Extracto etéreo	1.58	1.50	1.34	1.31	1.37	1.36
Fibra cruda	21.99	20.08	19.86	25.33	21.33	22.91
Cenizas	30.72	31.66	30.37	13.22	16.51	15.48
E L N	33.76	35.27	36.59	49.05	46.80	44.59

de las y se señala el porcentaje de excreción de Cr_2O_3 obtenido en las he-- ces excretadas.

En la gráfica 2, la línea con cruces, corresponde a los resultados obtenidos en el ovino número uno, la línea segmentada corresponde al - ovino 2, y finalmente la línea contínua corresponde al ovino 3. Todos ellos del grupo 1 experimental.

En la gráfica tres, se indica la excreción del marcador en el grupo experimental 2; la línea con cruces corresponde al ovino 4, la línea segmentada corresponde al animal 5, y la línea continua al ovino 6.

5. COEFICIENTES DE DIGESTIBILIDAD DE LA MATERIA SECA Y DE CADA NUTRIMENTO DEL ALIMENTO.

Los coeficientes de digestibilidad aparente de los grupos, el 1, paja de arroz hidrólizado y el 2, rastrojo de maíz hidrólizado, se determinarón en base a la fórmula propuesta por Kleiber 1961 (42); para calcular - el coeficiente de digestibilidad de la materia seca:

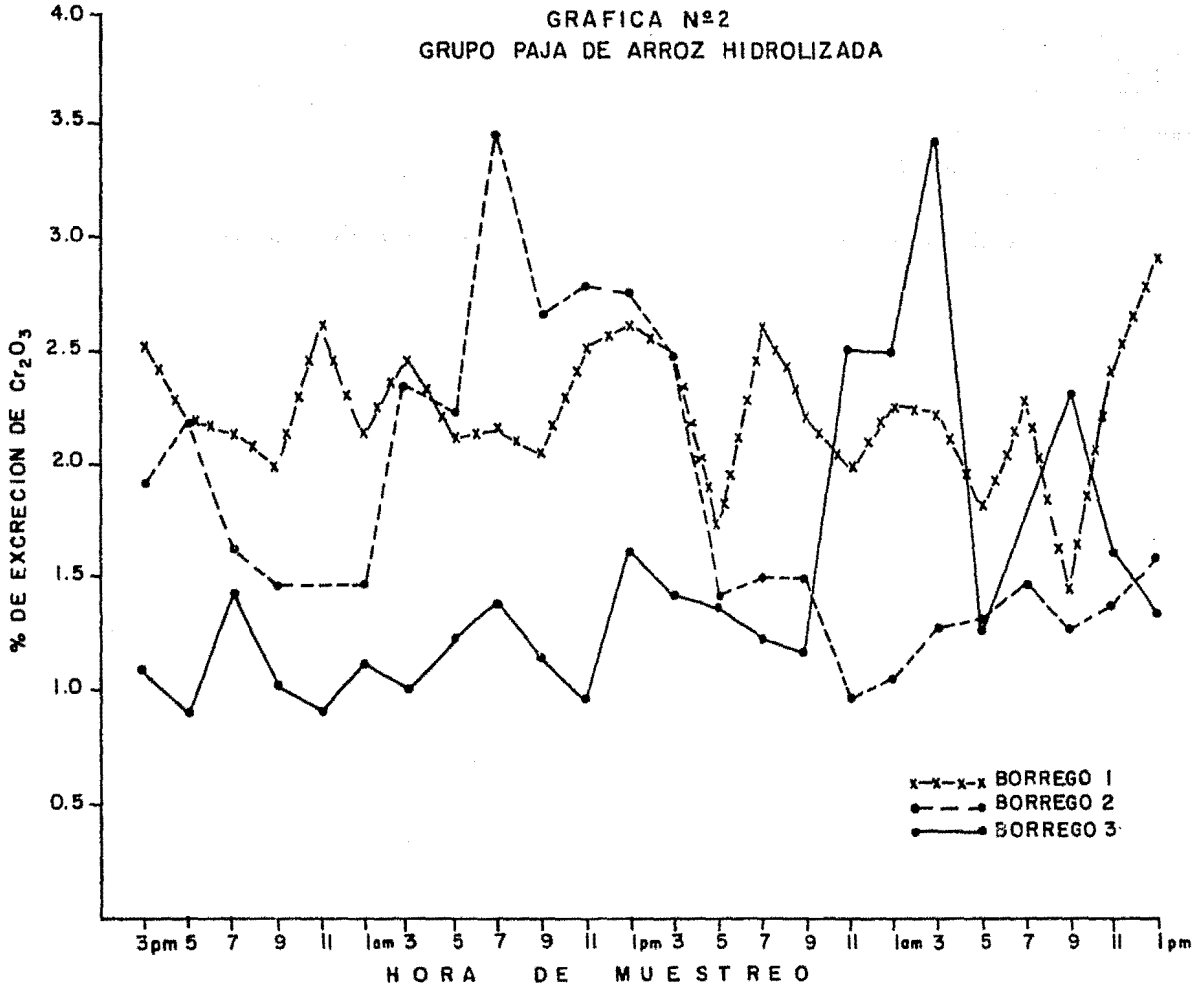
$$CD_{ms} = 1 - Ai/Af$$

Donde:

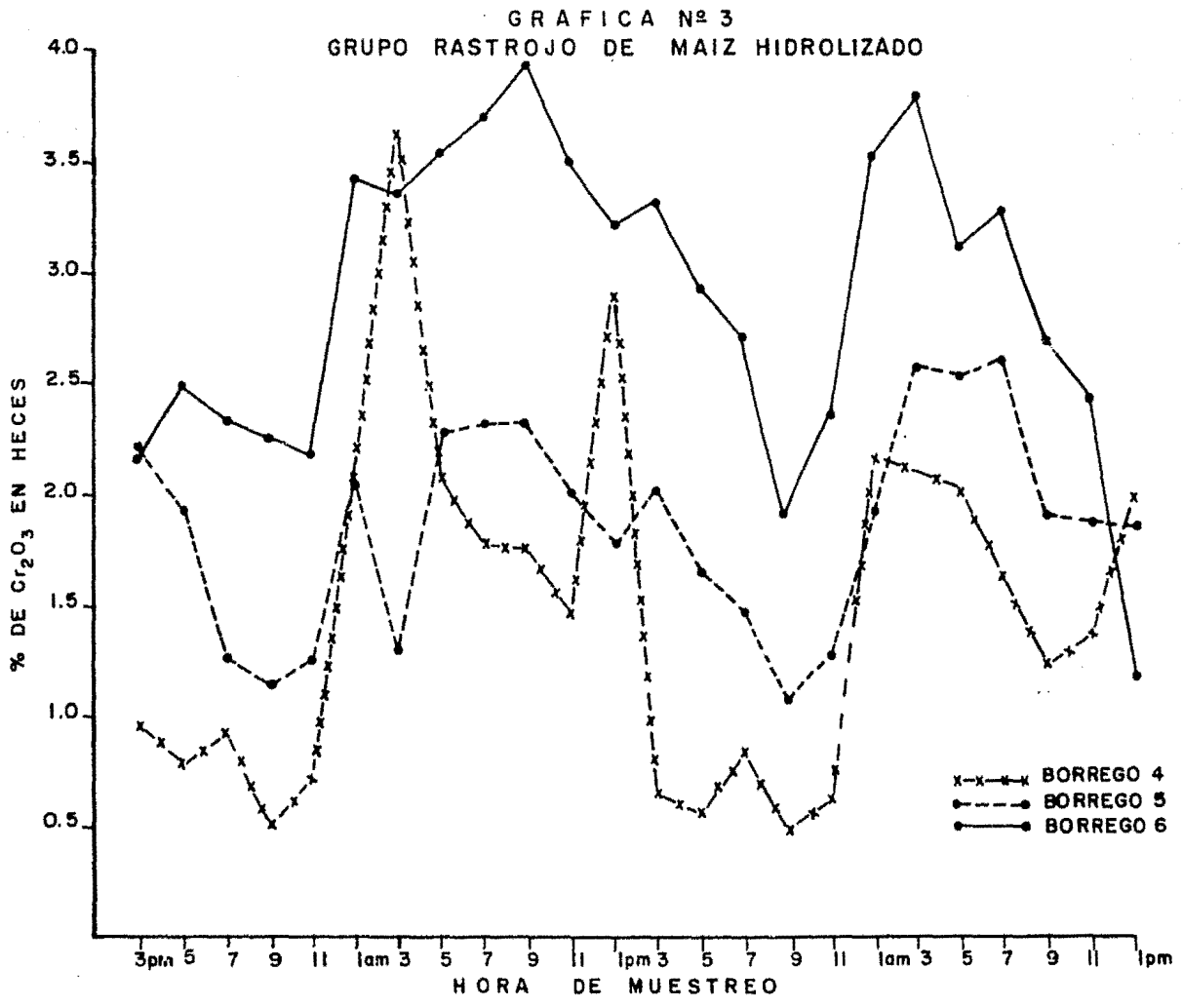
Ai = Concentración del indicador en el alimento.

Af = Concentración del indicador en las heces.

Los coeficientes de digestibilidad de los nutrimentos se determi- narón en base a la fórmula de Harris et al. (31):


GRAFICA Nº2
GRUPO PAJA DE ARROZ HIDROLIZADA
% DE EXCRECION DE Cr_2O_3
4.0
3.5
3.0
2.5
2.0
1.5
1.0
0.5
3pm 5 7 9 11 1am 3 5 7 9 11 1pm 3 5 7 9 11 1am 3 5 7 9 11 1pm
HORA DE MUESTREO
BORREGO 1
BORREGO 2
BORREGO 3

GRAFICA Nº 3
GRUPO RASTROJO DE MAIZ HIDROLIZADO



$$CD_n = 100 - 100 \quad \frac{\%\ \text{de } Cr_2O_3 \text{ en el alimento}}{\%\ \text{de } Cr_2O_3 \text{ en las heces}} \times \frac{\%\ \text{nutrimento en el heces}}{\%\ \text{de nutrimento en el alimento}}$$

En el cuadro IX, se señalan los coeficientes de digestibilidad para los dos grupos experimentales, calculándose los CD a través de la X de la concentración del Cr_2O_3 de 24 muestras, que se analizaron de cada uno de los animales en experimentación.

CUADRO IX

COEFICIENTES DE DIGESTIBILIDAD DE LA MATERIA SECA Y DE LOS NUTRIMENTOS DE LAS RACIONES -- 1 y 2

OVINO	Materia seca %	Proteína %	Extracto etéreo %	Fibra cruda %	E L N %
1	67.83	21.38	74.08	46.46	81.78
2	72.23	39.78	75.35	71.19	83.57
3	64.53	20.75	71.87	63.61	78.23
4	62.79	30.63	70.23	49.29	70.98
5	68.86	27.74	74.30	64.74	77.14
6	70.03	32.52	78.72	68.41	81.83

DISCUSION

Las raciones proporcionadas a los dos grupos de animales, no cubrierón los requerimentos diarios de los mismos, ya que las dietas proporcionadas fueron con el fin de determinar la digestibilidad de forrajes altamente fibrosos tratados químicamente, a través del mejoramiento del método de marcadores, junto con una fuente de energía como la melaza y una proteíca, representada en este caso por el concentrado.

Las necesidades nutricionales de los animales utilizados en este trabajo, según el NRC son: 1080g de materia seca, 136g de proteína y 3-Mcal de energía digestible por día; sin embargo, el grupo 1 paja de arroz-hidrólizada, consumió 884.601 g de M.S.; 46.879g de proteína y 2.46 Mcal - ED por día; el grupo 2 rastrojo de máiz hidrólizado, recibió 821.007g de - M.S., 49.502g de proteína y 2.31 Mcal ED diariamente.

Lo anterior se debe, a que el consumo voluntario en los rumiantes se ve marcadamente disminuído, aun cuando no se cubran sus requerimientos nutricionales, en el momento que existe un desequilibrio entre energía y proteína en la dieta, como sucedio en este trabajo, pués los requerimientos energéticos se cubrierón en un 82%, y los proteícos tan sólo en un - - 32.26% en el grupo 1; siendo de 77% y 36.69% para los dos nutrimentos respectivamente en el grupo 2. También el consumo voluntario disminuye por - el tipo de fermentación ruminal que sufren los forrajes altamente fibrosos, por haber una alta producción de ácido acético en relación a los demás ácidos grasos volátiles, ocasionando con ésto un bajo consumo de alimento -- (51).

Lo anterior indica, que elevando el aporte de proteína, en forma de materias proteícas, y agregando además una fuente de nitrógeno no proteíco como la urea, en una cantidad apropiada, el consumo voluntario se elevaría.

El número de animales que se utilizarón en la experimentación fue de 3 ovinos por grupo, número que han empleado la mayoría de los autores, puesto que en un 70% de las investigaciones se utilizan de 3 a 4 animales y se ha acordado que un número de 2 a 4 es suficiente como lo señalan varios autores (30 y 55).

El período experimental fue de 18 días, suficiente para que los períodos de adaptación, equilibrio de excresión del marcador y el de muestreo pudierán llevarse a cabo uniformemente. Constando el período de adaptación de 10 días, tal como lo han señalado varios autores (6 y 30) tiempo necesario para la eliminación de los resíduos alimenticios de la dieta anterior, pués el tiempo necesario para que los últimos resíduos alimenticios sean excretados es de 200 horas, aunque aproximadamente el 95% de los residuos aparecen en las primeras 140 horas en las excretas de rumiantes (44 y 51). También durante éste período se equilibró el nivel de consumo alimenticio, aunque según varios autores (5 y 14(el nivel alimenticio afecta al CD en la siguiente forma:

a) Es muy ligero y existe solamente a muy altos niveles nutricionales, que se podría considerar no significativo y

b) Que el efecto sólo se manifiesta sobre la digestibilidad de la celulosa. (15).

Como se observa en el cuadro IV el consumo de alimento, no f

igual atribuyendose ésto principalmente al consumo voluntario, debido a -- las causas ya mencionadas.

Por lo que respecta a la elaboración de la curva estándard con - 12 muestras de heces fecales libres de Cr_2O_3 y agregándosele a cada una -- 0.050g del marcador, permitierón elaborar la curva tipo; sin embargo, la - densidad óptica (DO) de 350 mu no permite lecturas de alícuotas con contenidos mayores de 50ug de Cr_2O_3 por ml, puesto que la técnica de Hill y Anderson (33) índica que las lecturas sean a 430mu y la curva de referencia debe cubrír el rango de 0 a 150ug/ml de dilución alícuota preparada; sin - embargo, a ésta densidad óptica (propuesta por Czarnocki) y con el número de muestras procesadas para elaborar la curva estándar permitió recuperaciones del 99.1% porcentaje inferior al que obtuvo o Czarnocki et al. 1961 que fue de 99.4%; la recuperación inferior que se obtuvo, se atribuyó a la poca experiencia que se tenía para realizar la técnica, a pesar de ello, Whitby y Lang 1960,(65) sólo recuperaron el 93%, considerándolo confiable.

Es importante al hacer las diluciones alícuotas, el emplear una pipeta para cada muestra y utilizar matraces aforados de 10ml para llevar a 10ml con H_2SO_4 .18M. la dilución, puesto que esto disminuye marcadamente el error en la determinación del marcador.

En la determinación del porcentaje del Cr_2O_3 presente en las -- muestras problema, es importante tener un blanco de reactivos para ajustar a 100% de transmitancia el espectrofotómetro, cada vez que se quiera leer; también es importante filtrar las muestras problema, puesto que el precipitado que se forma interfiere en la determinación de la DO en forma correcta.

Durante la digestión, es importante vigilar los matraces, pués- existe el riesgo de que el contenido del matraz rebase el cuello de éste- y haya pérdida de muestra, por lo que es importante agregar 3 ó 4 perlas - de vidrio para controlar la ebullición.

Es necesario tomar en cuenta la necesidad de repetir cada una - de las lecturas en el espectrofotómetro para tener una mayor seguridad.

La determinación del Cr_2O_3 de cada muestra por duplicado se pue de omitir cuando se logre una considerable práctica y se cometan el mínimo de errores en la determinación.

La administración del Cr_2O_3 por medio de cápsulas de gelatina - representa o constituye una forma práctica y segura para administrar el - marcador y tener seguridad que este va a ser depositado en el rumen en un- 100%, también cuando la principal fuente alimenticia son forrajes, la única forma de administrarlo es a través de cápsulas de gelatina, o bien por- medio de una fístula ruminal, es conveniente indicar que la administración de las cápsulas de gelatina obliga a tener un mayor control sobre los animales, marcándose más éste cuando se administra Cr_2O_3 dos veces al día.

Por éste medio de administración, se evita el muestreo del alimento para realizar la determinación del Cr_2O_3, especialmente cuando éste- se administra mezclado con el alimento o parte de éste, (13, 54 y 63); sin embargo, éste medio tiene como ventaja el no cuantificar la cantidad de -- alimento ingerido y los animales pueden estar en grupo, sin necesidad de - tener un control individual.

Los estudios realizados, utilizando las cápsulas como medio de-administración, han demostrado que es confiable, pues son varios los autores que los han empleado (32, 37 y 38), los cuales, obtuvieron recuperaciones del 98% y Utley et al 1970 (63) recuperaron 99.9%, éste porcentaje de recuperación se obtuvo con respecto a la cantidad de cromo que fue administrado a los animales, lo que da confiabilidad para utilizar este medio para la administración del Cr_2O_3; en esta forma, la cantidad no recuperada - se puede atribuir a causas como son: parte del Cr_2O_3 queda retenido en los plieges del tracto intestinal del animal, o bien a pérdidas que se presentan en el laboratorio, como ya se indicó en la introducción de este trabajo.

El período de muestreo se realizó después de 6 días de haber empezado a administrarse el Cr_2O_3, lo que permitió que la excresión del marcador se equilibrara tal como lo señala Sharpe y Robinson, 1970 (60) representando este tiempo, el período de equilibrio.

El período de toma de muestras se llevó a cabc los dos últimos-días, con intervalos de 2 horas, lo cual tuvo como ventajas, el captar las variaciones que hay en la excresión del marcador; como se vió en las gráficas 2 y 3, las variaciones en la excresión del óxido de cromo no fueron -- diurnas exclusivamente, no fueron constantes y tampoco fueron homogéneas,- mismos resultados que se han observado en otros estudios (47 y 53).

Los resultados obtenidos en nuestro estudio pueden apreciarse - en el cuadro XI en donde las excreciones mayores se manifestaron en las - horas diurnas, con excepción de los ovinos 1 y 4, en donde las mayores encreciones se registraron a la 1 pm y 7 pm respectivamente; las excreciones

CUADRO X I

EXCRECIONES MINIMAS Y MAXIMAS DEL Cr_2O_3, Y HORA EN QUE SE PRESENTARON

Ovino	Excresión mínima de Cr_2O_3 %	Hora	día	Excresión Máxima de Cr_2O_3 %	Hora	día	%de Cr_2O_3 ingerido con respecto a la M.S.
1	1.45	3 pm	2	2.91	1pm	3	0.724
2	0.95	11 pm	2	3.44	7 am	2	0.500
3	0.89	5 pm	1	2.91	3 am	3	0.518
4	0.48	9 pm	1	3.63	3 am	2	0.547
5	1.06	9 pm	2	2.60	7 pm	3	0.570
6	1.14	1 pm	3	3.80	3 am	3	0.743

mínimas tuvieron lugar en las horas vespertinas en los 6 ovinos. Similares excresiones del óxido de cromo, se presentaron en el trabajo de Phar, 1970 (53), aunque éste empleó bovinos; lo mismo pasó en la investigación realizada por Mcguire, 1966 (36). Los dos ovinos que no siguierón ese horario, en cuanto a la excreción del marcador, se atribuye a características individuales del tracto digestivo del animal, grado de salivación, capacidad ruminal para las fermentaciones y el horario en el cual los ovinos ingerían el alimento, ya que estuvierón alimentados ad libitum, consideraciones hechas también por Lambourne, 1957 (44). Esta es la principal razón por la cual no se pueden captar las variaciones presentes en la excresión del marcador, cuando se hace un muestreo durante tres días, a las 10 y a las 12 horas y entre las 14 y las 16 horas del día, como se propone en la revisión bibliográfica hecha por Kotb, 1972 (41),con el fin de evitar un muestreo por un mayor tiempo durante varias horas del día, ya que estas mismas variaciones se presentan aún con un marcador interno como lo es la lignina (38).

Los coeficientes de digestibilidad de las raciones proporcionadas a los animales, fuerón elevados si se toma en cuenta el contenido de fibra cruda de las raciones, que fueron 19.39% para el grupo 1 paja de arroz hidrólizada y de 18.84% para el grupo 2 rastrojo de maíz hidrólizado, ya que alimentos con éste contenido de fibra cruda, y sin haber sido tratados el coeficiente de digestibilidad de la materia seca, es de 55 a 60%, de la fibra cruda es de 55% y con un TND de 50-55%; sin embargo, en éstas raciones, los coeficientes de digestibilidad fueron de: 74.86% y 68.56% para M.S.; de 60.42% y 60.81% para FC y con un 89.37% y 89.94% de TND para el grupo 1 y 2 respectivamente.

Los coeficientes de digestibilidad obtenidos en éstas raciones, se deben al efecto que tuvo el proceso químico sobre la fibra cruda del forraje, ya sea la paja de arroz o bien el rastrojo de maíz, pues la lignina se ve afectada, al ser separada por el hidróxido de sodio, de la celulosa y de la hemicelulosa, y de ésta forma, ser atacadas por los microorganismos del rumen, elevandose los CD de los nutrimentos.

Al observar los coeficientes de digestibilidad de cada grupo de ovinos para cada nutrimento, se tiene que en el grupo 1, no se cumple la aseveración que dice, "que la digestibilidad disminuye a medida que el consumo de alimento aumenta", dado que, los coeficientes de digestibilidad de cada nutrimento fueron mayores en el ovino 2, a pesar de que el consumo fue de 999.485g superior al de los ovinos 1 y 3, que consumierón 689.930 y 967.020g respectivamente, en base a materia seca.

Los datos obtenidos en el grupo 2, son más uniformes y concuerdan con la regla mencionada anteriormente, ya que en los ovinos 3, 4 y 5 ésta estuvo en relación indirecta con el nivel de consumo de alimento; esdecir, a mayor consumo, menor coeficiente de digestibilidad. Sin embargo, en el ovino 4 el consumo de alimentos fue el más alto de los tres animales, pero el coeficiente de digestibilidad para la proteína fue mayor.

Los resultados obtenidos, tanto en el grupo 1 como en el 2, indican que los coeficientes de digestibilidad se ven marcadamente influídos por características propias del individuo, ya que la digestibilidad de la materia seca y demás nutrimentos no disminuye más que de 1 a 3% cuando la ingestión aumenta en un 50 a 100%, ésto sucede con forrajes de una alta cantidad de fibra cruda (18, 41 y 46) siendo éste principio nutritivo

que se ve más afectado por el nivel de alimentación, tal como los señalan- Blaxter, 1955 (5) y Corbett y Raymon, 1958 (14).

El método convencional para determinar la digestibilidad de un- alimento, es difícil, sofisticado y laborioso para llevarse a cabo, ya que se tiene que efectuar un estricto control sobre el peso del alimento ingerido, así como también de las heces, es necesario recolectarlas totalmente y cuantificarlas, lo cual representa una pérdida de tiempo, también es necesario el confinamiento de los animales en jaulas metábolicas, para lograr un adecuado control de los parámetros anteriores.

En el método del TND, los porcentajes de digestibilidad señalados a través de las tablas del NRC, fueron calculados, mediante el método- convencional u otro, siendo estos valores cifras medías y no constantes -- biólogicas, por esto los valores son poco exactos. También la digestibilidad calculada por este método puede variar debido a ciertos factores tales como:

1) La composición de la ración; es decir, la digestibilidad - - de una mezcla de alimentos, no es igual a la suma de los CD de cada componente de la ración calculados por separado (18, 45, 46).

2) El nivel total de fibra cruda, tiene influencia sobre la digestibilidad de un alimento, y por lo tanto del CD de una mezcla de alimentos, y principalmente el contenido de lignina, relacionado éste, con el -- estado de madurez de las plantas, puesto que a mayor madurez (edad) mayor- contenido de lignina y por consiguiente menor CD.

3) El nivel de alimentación, influye también, ya que a medida - que aumenta la ingestión de un alimento, la digestibilidad disminuye, puesto que el paso por el tracto gastro intestinal es más rápido, y por lo tanto el alimento es menos atacado por las enzimas, aunque esto se manifiesta marcadamente en monogástricos, ya que los trabajos realizados en rumiantes reportan que el nivel alimenticio, afecta muy ligeramente al CD, que no es significativo y que el efecto sólo se manifiesta para la celulosa, tal como lo señalan Blaxter, 1955 (5) y Corbett, 1958 (14).

El método de los marcadores o indicadores señala una técnica, a través de la cual, se pueden realizar las determinaciones de los CD en condiciones más prácticas y que se acercan lo más posible a las que se encuentran normalmente en las explotaciones, ya sea en estabulación o en pastoreo.

De la amplia gama de marcadores que se han utilizado, algunos - han perdido popularidad tales como son: Las perlas de vidrio, semillas pequeñas, plástico, carbón, partículas metálicas, silice, violeta de antraquinona y azul de monastral; su empleo ha disminuído, debido a la gran variedad de contradicciones que se presentan en los reportes de varios investigadores y también por acelerar ó retardar el tránsito intestinal, como - ocurre con el carbón, perlas de vidrio y partículas metálicas; en cuanto a los colorantes, éstos presentan una gran dificultad para ser recuperados - totalmente. En relación a las partículas metálicas es necesario hacer estudios para determinar el tamaño y la gravedad específica, para ser empleados como marcadores nutricionales (41).

En cuanto a los colorantes óptimos para estudios de cuantificación de la velocidad de paso de los alimentos en rumiantes, se han empleado: Azul de metileno, cristal violeta, fushina básica y azul de anilina.

De los marcadores internos los que han resultado mejores, son - los cromógenos y nitrógeno fecal, lo que indica que su utilización como -- marcadores, continuará hasta encontrar otros mejores.

El óxido de cromo ha sido el más usado como marcador fecal, obteniéndose mejores resultados cuando el Cr_2O_3 se da al animal en un vehículo apropiado, teniendo el óxido radioactivo ($^{51}Cr_2O_3$) la ventaja de que se utiliza en pequeñas cantidades y en un tiempo menor para que se cuantifique químicamente en el laboratorio, que el utilizado para el Cr_2O_3.

Sin embargo, para las condiciones de México no se puede considerar así, dada la gran experiencia que se debe tener en el manejo de este material y además la tecnología que se debe utilizar, la cual no ésta al - alcance del país para este tipo de experimentación.

Por lo anterior, se puede decir, que el Cr_2O_3 es el marcador externo que más ampliamente se ha utilizado, por reunir la mayor cantidad de caracteristicas, que debe tener un buen indicador, estando la técnica al - alcance y posibilidades de la investigación del país.

C O N C L U S I O N E S

1. El marcador sesquióxido de cromo es el indicador interno que posee mayores ventajas, al emplearse en pruebas de digestibilidad in vivo. Aún, cuando se le compara con resultados obtenidos a través de -- otros marcadores y con el método convencional.

2. Las cápsulas de gelatina representan un medio fácil, barato y seguro para administrar el marcador.

3. El periodo de muestreo deberá de tomar en consideración,- las variaciones que se manifiestan en la excresión del Cr_2O_3. El muestreo cada 2 horas durante las últimas 48 horas de la administración del marcador han dado resultados satisfactorios.

4. La determinación del Cr_2O_3, a través de la técnica de Hill y Anderson (1958), modificada por Czarnocki (1962), da confiabiliad al- método.

5. Los coeficientes de digestibilidad en las dietas, indican que el tratamiento alcalino con NaOH al 4%, tuvo efecto sobre la fibra- cruda; esto se manifestó, al destruirse el enlace físico-químico de la- lignina y celulosa y de esta manera, aumentó el CD del forraje fibroso - y con ello el de la dieta. Sin embargo, por el desbalance energía - pro-

teína, el consumo voluntario se vio disminuido, esto indica, que al incorporar una fuente de Nitrógeno no proteíco, como la urea en la ración, el consumo de la dieta tendrá que mejorar y en consecuencia la calidad nutritiva de la ración.

6. Por la necesidad de los países como México, de encontrar cada día nuevas fuentes alimenticias para animales, es necesario conocer el CD de éstos, para ello el método del Cr_2O_3, representa una técnica -- sencilla y al alcance de la investigación en el país.

B I B L I O G R A F I A

1.- Alvarez, W.C.: "An Introduction to gastroenterology". Ed. 4a., London, U.K., Capítulo 27 (1960).

2.- A.O.A.C. Official Methods of Analysis. 6th Ed. Association of official agricultural chemists, Washington, D.C. (1960).

3.- Balch,C.C. y Campling, R.C.: "In phisiology of digestion in the ruminant". Papers presented at the 2nd. International symposium- Ames, Iowa, London UK, p. 108 (1964).

4.- Bergein, O.: "Intestinal chemistry. IV. A method for the study of - food utilization on digestibility". J.Biol. Chem.,70: 23-33- (1926).

5.- Blaxter, K.L. y Graham N.M.: "The effectof the grinding and cubing - process on the utilization of the energy of dried grass".J. - Agri. Sci., 47: 207 - 217 (1966).

6.- Blaxter, K.L. Graham,N.M. y Wainsman, F.M.: "Some observations on - the digestibility of food by sheep, and on related problems". Br. J. Ntr., 10: 69-91 (1956).

7.- Boling, D.M., King, R.P. y Klostermar E.W.: "A simplified method - for the determination of chromi oxide when used as an idex - subtance". Science., 116: 634- 639 (1952).

8.- Bradley, N.W., Forbes, R.M., Albert, W.W., Mitchel, G.E. Jr. y -- Newman, A.L.: "Use of chromic oxide method for determining digestible energy and protein in complete pelleted steer ra- - - tions". J. Anim. Sci., 17: 1199-1206 (1958).

9.- Brisson, G.J., Pigden,W.J.y Sylvester, P.E.: "Effect of frequency - of administration of chromic oxide on its fecal excretion pattern by grazing steers". Can. J. Anim. Sci., 38: 90-96 - - (1957).

10.- Butcher,J.E. y Harris; Proceedings American Society Of Animal Production 7, XXV (1956). Citado por: "Methods for determination - of digestibility coefficients of feed for rumiants". Euro- - pean Association for Animal Production (EAAP) Report No. 1 - From the Study Comission on Animal Nutrition. (1969).

11.- Calderón, G.E., Rojas, R., Shimada,A.S. y Peraza, C.C.: "Alimenta-- ción de becerros con rastrojo de maíz tratado con álcali".Vet. Méx., 6: 92-95 (1975).

12.- Clanton, C.D.: "A comparison of 7 and 10 - day collection pediods - in digeston and metabolism trials using harnesses with beef - heifers" J. Anim. Sci., 20: 640-645 (1961).

13.- Claton, C.D.: "Variation in chromic oxide methods of determining digestibility of hand-fed beef cattle rations". J. Anim. Sci.,- 21: 214 -218 (1962).

14.- Corbett, J.L.: "Studies on the extension of the grazing season. III. Management and performance of winter - grassed cattle". J. -- Brit. grass. Soc., 13: 317 - 146 (1958).

15.- Corbett,J.L.: "Voluntary Intake of Feed" Roy. Agr. Soc. Eng., 122:- 175 - 193 (1961).

16.- Corbett,J.L., Greenhalgh, J.F.D., Gwynn, P.E. y Walker, D.: "Excre-- tion of chromium sesquioxide and polyethelen-glycol by dairy- cow". Brit. J. Nutr., 12: 266 - 276 (1958).

17.- Corbett, J.L., Greenhalgh, J.F.D., Mc Donald, I. y Florence, E.: "Ex cretion of chromium sesquioxide administered as a component - of paper to sheep". Brit. J. Nutr., 14: 289-299 (1960).

18.- Crampton, E.W. y Harris, L.E.: " Applied Animal Nutrition" 2a. Ed.W. H. Freedman & Co. (1969).

19.- Crampton, E.W. y Lewis E.L.: "Studies with sheep on the use of chro- mic oxide as an index of digestibility of ruminant rations".- J. Nutr., 45: 319 - 327 (1951).

20.- Crampton, E.W. y Maynard, L.A.: "The relation of cellulose and lig- nin content to the nutritive value of animal feeds". J.Nutr., 15: 383 - 387 (1938).

21.- Cross, D.L., Boling, J.A. y Bradley, N.W.: "Chromic oxide and crude-

protein in the bovine as influenced by water restriction". J. Anim. Sci., 36: 982 - 985 (1973).

22.- Czarnocki, J., Sibbald, I.R. y Evans, E.U.: "The determination of - chromic oxide in samples of feed excreta by acid digestion - and spectrophotometry". Can. J. Anim. Sci., 41: 167-174(1961).

23.- Davis, C.L., Byers, J.H.y Lauber, L.E.: " An evaluation of the chromic oxide method of determining digestibility". J. Dairy Sci., 41: 152 - 159 (1958).

24.- Donaldson, R.M. Jr. y Barreras, R.F.J.: Journal of Laboratory and-Clinical Medicine., 68: 484 - (1966) citado por Kotb, A.R., y Luckey, T.D.: "Markers in Nutrition". Nutr. Abs. Revs., 42: - 813 - 844 (1972).

25.- Duclazeau, R., Bellier, M. y Raibaud, P.: "Zentralblatturfur bacte--riologie, Prasintekinde, intektions krankeiten and Hygiene -- 213 abt. 1, originale (4) 533. (1970).

26.- Elam, C.J., Putman, D.A. y Davis, R.E.: " Fecal excretion pattern of chromic oxide administered to hereford heifers in a completely pelleted ration". J. Anim. Sci., 18: 718-725(1959).

27.- Elam, C.J., Reynolds, P.J., Davis, R.E. y Everson,D.O.: "Disgestibility studies by means of chromic oxide, lignin and total co--llection techniques with sheep". J. Anim. Sci., 21: 189 - 192 (1962).

28.- Fernández, C.J. y Green-Halgh,S.F.D.: "The digestibility and acceptability to sheep of chopped or milled barley straw soaked or - sprayed with alkali". Memorias de la 4a. Reunión Latino Americana de Producción Animal, Guadalajara, Jal. México (1973).

29.- Fournier,P. y Dupuis,E.: "The fate of phosphorus compounds of food- in the different parts of the digestive tract of the adult -- rat". J. Physiol., 45: 451-416 (1953).

30.- Green-Halgh, J.F.D.; Corbett,J.L. y Mc Donald, I.: "The indirect estimation of the digestibility of pasture herbage". Agric.- - Sci., 55: 371 - 386 (1960).

31.- Harris, L.E., Lofgreen, G.P., Kercher,C.J., Raleigh, R.J., y Bohman, U.R.: "Techniques of research in range livestock nutrition": Agr. Expt. Sta. Bul. 471 (1967).

32.- Heyes,B.W., Little,C.O. y Mitchel Jr. G.E.: "Influence of ruminal,- abomasal and intestinal fistulation and digestion in steers". J.Anim. Sci., 23: 764-766 (1964).

33.- Hill,F.W. y Anderson, D.L.: "Comparison of metabolizable energy and productive energy determination with growing chicks". J.Nutr., 64: 587 - 603 (1958).

34.- Hoezel, F.: Am. J. Physiology 92: (2) 466- (1930) citado por "Kotb, A.R., Luchey, T.D., " Markers in nutrition" Nutr. Abs. Revs., 42: 813 - 844 (1972).

35.- Hogan, J.P.: "The digestion of food by the grazing sheep. I. The rate of flow of digesta". Aus. J. Agr. Res., 15: 384 - 396 -- (1964).

36.- Kane, E.A., Jacobson, W.C. y Moore, L.A.: "A comparison of techni- - ques used in conducting digestibility studies on dairy cattle" J. Nutr., 41: 583-596 (1950).

37.- Kane,E.A., Jacobson, W.C. y Moore, L.A.: " A study of the use of chromium oxide and lignin as indicators of digestibility". J. Dairy Sci., 33: 385 - 394 (1950).

38.- Kane, E.A., Jacobson, W.C. y Damewood Jr., P.M.: "Use of radioactive- chromium oxide in digestibility determinations". J. Dairy. - - Sci., 42: 1354 - 1366 (1959).

39.- Kane,E.A., Jacobson, W.C. y Moore, L.A.: "Diurnal variation in the excretion of chromium oxide and lignin". J. Nutr., 47: 263-270 - (1952).

40.- Kindel, F.: "Use of dyes to mark ruminant feces". J. Wildlife Management., 24: 429-435 (1960).

41.- Kotb, A.R. y Luckey, T.D.: "Markers in Nutrition". Nutr. Abs. Revs., 42: 813 - 844 (1972).

42.- Kleiber, M.: "The fire of Life". John Wiley and Son, 254-255 New - - York,U.S.A., London, U.K. (1961).

43.- Klopfenstein T.J., Graham R.P., Walker H.G y Kohler, G.D.: "Chemi- - cals with pressure treated cobs". J. Anim. Sci., 39: 243-244 (1974).

44.- Lambourme, L.J.: "Measurement of feed intake of grazing sheep. I.Rate of passage of inert reference materials through the rumi-- nant digestive tract". J. Agr. Sci., 48: 273 - 285 (1957).

45.- Maynard, L.A. y Loosli, J.K.: "Nutrición Animal" 3a. Ed. Hispano-Americana (1955).

46.- Mc Donald, P. y Edwards, E.F. y Green-Halgh, J.F.D.: "Animal Nutrition" 5a. Ed. Oliver & Boyd (1973).

47.- McGuire, R.L., Bradley, N.W. y Little,C.O.: "Effects of frequency - of feeding on excretion of chromic oxide, crude protein and - gross energy on nutrient digestibility by steers". J.Anim. - Sci., 25: 185-191 (1966).

48.- Merck Index, Merck and Co., Rahway, N.J., USA (1968).

49.- Mueller, W.J.: "Feasibility of the chromic oxide and the lignin indicator methods for metabolism experiments with chickens". J. - Nutr. 58: 29 - 36 (1956).

50.- Murgia, L.J.: "La determinación del valor bromatólogico y la productividad de las pasturas por medio de los rumiantes". Suple--

mento de la Revista de Investigaciones Ganaderas, Buenos Ai-- res., 34-57 (1959).

51.- Pérez - Gil, R.F.: " El empleo de marcadores en pruebas de Digestibi lidad". Publicación L-31 de la División de Nutrición, Institu to Nacional de la Nutrición - Conacyt - Pronal; México(1976).

52.- Pérez - Gil, R.F.: "Comunicación personal" (1976).

53.- Phar, P.A., Bradley, V.W., Little, C.O. y Cundiff, L.V.: "Effects of confinement and level of feed intake on digestibility of nu-- trients and excretion of chromic oxide, crude protein and - - gross energy in the bovine". J. Anim. Sci., 30: 589 - 597 - (1970).

54.- Phar, P.A., Bradley, V.W., Little, C.O. y Cundiff, L.V.: "Nutrient - digestibility using fecal collection apparatus and indicador- method for steers fed ad libitum". J. Anim. Sci., 33:695-697 (1971).

55.- Raymond, W.F., Harris, C.E. y Harker, V.G.: "Studies on the digesti bility of herbage". J. Brit. Grass, Soc., 8: 301 - 320(1953).

56.- Reid, J. T., Woolfork, P.G., Richards, C.R., Kaufman, R.W., Loosli, - J. K., Turk, K.L., Miller, J.I. y Blaser, R.E. : " A new indi- cador method for determination of digestibility and consump- - tion of forages by ruminants".J. Dairy Sci., 33:60-71(1950).

57.- Reverón, A.E. y Topps., J.H.: " Tratamiento de pajas de trigo y cebada con NaOH". Memorias de la 4a. Reunión Latinoamericana de - Producción Animal, Guadalajara, Jal. México (1973).

58.- Schurch, A.F., LLoyd, L.E. y Crampton, E.W.: " The use of chromic oxide as an index for determining the digestibility of a diet".- J. Nutr., 41: 629-639 (1950).

59.- Schurch, A.F.,Crampton, E.W., Haskell, S.R. y LLoyd, L.E.: "The use - of chromic oxide in digestibility studies with pigs, fed ad-- libitum in the barn". J. Anim. Sci., 11: 261 - 265 (1952).

60.- Sharpe, S.J. y Robinson, M.F.: "Intermitent and continuous faecal markers in short - term metabolic balance studies in young woman", Brit. J. Nutr., 24: 489 - 500 (1970).

61.- Stanley, M.M. y Cheng, S.H.: "Cholesterol exchange in the gastrointestinal tract in normal and abnormal subjects". Gastroenterology., 30: 62-74 (1956).

62.- Stanley, M.M. y Cheng, S.H..: "Excretion from the gut and gastrointestinal exchange, studied by means of the inert indicator me- - thod". Am. J. Diges., 18: 628 - 642 (1957).

63.- Utley, P.R., Boling, N.W., Bradley, J.L. y Tucker, R.E.: "Recovery of radioactive chromic oxide from the bovine gastro - intestinal- tract". J. Nutr., 100: 1227 - 1232 (1970).

64.- Weston, R.H., y Hogan, J.P.: "The digestion of chopped and ground roughages by sheep". I. The move-ment of digesta through the stomach". Aus. J. Agr. Res., 18: 789 - 801 (1967).

65.- Whitby, L.G. y Lang, D.: "Experience with the chromic oxide method of fecal marking metabolic balance investigation on humans": J. - Clin. Invest., 39: 854-863 (1960).

66.- Whitson, D.C.W., Carrieck, R.E., Roberts. and Hauge, S.M.: "A method-for determining the absorption of nutrients". Paultry Sci., - 22: 137 - 141 (1943).

BIBLIOGRAFIA ADICIONAL:

1.- Blaxter, K.L.: "Introductory remarks: the definition of feeding value". Proc. Nutr. Soc., 36: 169 - 171 (1977).

2.- Morton, J.R. y Rodgman, W.J.: "Problems in the satatistical design and analysis of feeding trials". Proc. Nutr. Soc. 36: 173 - 177 (1977).

3.- Osborn,D.F. y Terry, R.A.: "In vitro techniques for the cuantí fication of ruminant feeds". Proc. Nutr.Soc., 36: 219-225 (1977).

4.- Sutton, J.D. y Oldham, J.D.: "Feed evaluation by measurement of sites of digestion in cannulated ruminants". Proc.Nutr. Soc., 36: 203 - 210 (1977).

5.- Wainman, F.W.: "Digestibility and balance in ruminants". Proc. Nutr. Soc., 36: 195 - 202 (1977).