

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO
FACULTAD DE QUIMICA



**EVALUACION QUIMICA Y BIOLOGICA DE
NUEVAS FUENTES DE ALIMENTOS
PARA RUMIANTES**

RICARDO MIGUEL AGUILAR CARRILLO

QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO

1978



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



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.

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

AA. TESIS 1978
DE M. F.
SCHA _____
DOR _____
e _____



INSTITUTO QUÍMICO Y FARMACÉUTICO DE
LABORATORIOS DE ALIMENTOS
TETRAHIDRATOS

RICARDO MATEO DE LA CRUZ (CARRETO)

QUÍMICO FARMACÉUTICO BIÓLOGO

JURADO ASIGNADO ORIGINALMENTE SEGUN EL TEMA

Presidente: NINFA GUERRERO DE CALLEJAS

Vocal: ENRIQUE GARCIA GALEANO

Secretario: ANGELA SOTELO LOPEZ

1º Suplente: ALEJANDRO GARDUÑO TORRES

2º Suplente: MIGUEL HERNANDEZ INFANTE

SITIO DONDE SE DESARROLLO EL TEMA: Depto. de Farmacia
D.E.S. Facultad de Química, U. N. A. M.

NOMBRE COMPLETO Y FIRMA DEL SUSTENTANTE:

Ricardo Miguel Aguilar Carrillo

NOMBRE COMPLETO Y FIRMA DEL ASESOR DEL TEMA:

Angela Sotelo López

Agradecimiento

Deseo manifestar mi agradecimiento a la Organización de Estados Americanos (O.E.A.) por el patrocinio del presente trabajo; a el Ing. Ruy Oscarberro de Chapingo por la ayuda prestada en las técnicas biológicas; a la M. en C. Angela Sotelo por su dirección; a Angélica, Bernardo y Adolfo, mis compañeros del laboratorio y " a toda la gente buena que me hizo sonreír " *

*Janis Joplin

Sólo a mis padres

(no soy barbero)

EL AMIGO IDO

Me escribe Napoleón:

"El Colegio es muy grande,
nos levantamos muy temprano,
hablamos únicamente en inglés,
te mando un retrato del edificio..."

Ya no robaremos juntos dulces
de las alacenas, ni escaparemos
hacia el río para ahogarnos a medias
y pescar sandías sangrientas.

Ya voy a presentar sexto año;
después, según todas las probabilidades,
aprenderé todo lo que se deba,
seré médico,
tendré ambiciones, barba, pantalón largo...

Pero si tengo un hijo
haré que nadie nunca le enseñe nada.
Quiero que sea tan perezoso y feliz
como a mi no me dejaron mis padres
ni a mis padres mis abuelos
ni a mis abuelos Dios.

SALVADOR NOVO

I N D I C E

I	OBJETIVO	1
II	INTRODUCCION	2
III	GENERALIDADES	3
	Digestión de Rumiantes	3
	Flora Ruminal	7
	Clasificación Simple de los Nutrientes	9
	Evaluación Nutritiva de los Alimentos	16
	Calidad Nutritiva de los Alimentos	19
IV	PARTE EXPERIMENTAL	20
V	RESULTADOS Y DISCUSION	31
VI	CONCLUSIONES	38
VII	BIBLIOGRAFIA	39

I O B J E T I V O :

El objetivo del presente trabajo es evaluar la digestibilidad "in vitro" de algunas plantas silvestres que , por su distribución en nuestro país, pudieran resultar adecuadas para la alimentación de rumiantes.

II I N T R O D U C C I O N :

Durante los últimos años se han incrementado los estudios de nutrición animal con el fin de conocer los factores que influyen en el aprovechamiento de los nutrientes, así como la mejor forma de utilizar de una manera más equilibrada diversos componentes no convencionales y poder adaptarlos a las condiciones de cada región del mundo.

Debido a que las características fisiológicas de los rumiantes se prestan para lograr una mayor diversificación de sus componentes nutricionales, los estudios se han canalizado hacia una intensa búsqueda de nuevas fuentes de alimentos y disminuir de esta manera el uso de los alimentos convencionales para la alimentación animal.

III GENERALIDADES

Entre los mayores logros alcanzados dentro de la alimentación animal está el empleo de nitrógeno no proteico como elemento básico en sus dietas. También son usados desechos industriales como: residuos de fermentación, melasa, etc. y finalmente productos que por alguna circunstancia no tengan posibilidades de servir a monogástricos. (8,12,22)

DIGESTION DE RUMIANTES

Por la digestión se entiende el "conjunto de cambios que experimenta el alimento dentro del aparato digestivo para prepararlo para su absorción y utilización en el cuerpo" (19), o de manera más simple, como la "preparación del alimento para su absorción" (6).

Los cambios sufridos son a la vez químicos y mecánicos. El alimento debe estar desmenuzado en partículas pequeñas por medios mecánicos a fin de aumentar su superficie de contacto y romper las envolturas o cáscaras de semillas. La función anterior se realiza principalmente en la boca, donde se desmenuza y muele por la acción de los dientes, además es humedecido por la saliva algo viscosa. Una vez realizado lo anterior, las masas húmedas y resbalosas pasan a través del esófago hacia la ranura esofágica y de ahí al rumen (19).

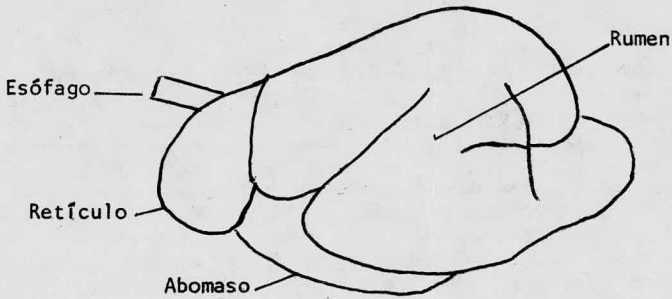
En el caso de bovinos se producen alrededor de 150 litros de saliva que contiene gran cantidad de bicarbonato de sodio necesario para mantener el pH adecuado y mantener la concentración de agua adecuada (7). La saliva es además fuente de nitrógeno en forma de urea y mucoproteínas y de sodio y potasio utilizados por los microorganismos ruminales y para ayudar como buffers (6).

El aparato digestivo de los rumiantes es más complicado que el de otros animales, debido a que cuenta con un estómago compuesto por cuatro compartimentos: Retículo, rumen, omaso y abomaso (11). El retículo y el rumen no están completamente diferenciados, pero tienen propósitos funcionales diferentes. El retículo en movimiento manda el alimento ingestado hacia el rumen o hacia el omaso y también hace posible la regurgitación, que es la acción por la cual el alimento vuelve a la boca para ser remasticado. El rumen actúa como una cámara de fermentación en la cual los microorganismos ruminales atacan a ciertos nutrientes para desdoblarlos. La función del omaso no está claramente definida, aunque ayuda a reducir el tamaño de partícula del alimento ingerido y absorber algunos elementos. El abomaso tiene funciones similares a las del estómago de monogástricos, es decir secreción de pepsina y ácido clorhídrico para el desdoblamiento de proteínas (8).

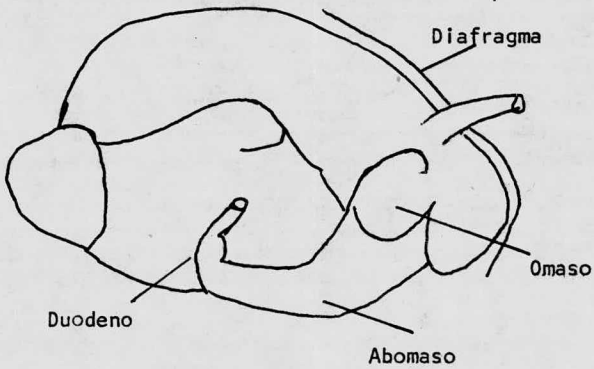
En los rumiantes jóvenes el retículo, rumen y omaso están relativamente poco desarrollados, a medida que aumenta su crecimiento estos compartimentos se desarrollan (8).

ESQUEMA DEL ESTOMAGO DE OVINO

Superficie Parietal



Superficie Visceral



El estómago completo de rumiantes puede llegar a tener una capacidad de más de 240 litros, por lo tanto tiene aptitud para aceptar gran cantidad de alimento voluminoso (19).

El alimento posteriormente, pasa al intestino donde se realiza la hidrólisis y absorción de nutrientes de manera similar a los demás animales. El intestino delgado mide alrededor de 40 m. en el caso de bovinos y 24 en ovinos, mientras que el intestino grueso tiene una capacidad de 37 l. en bovinos y 5.5 en ovinos (19).

FLORA RUMINAL (7,8)

En el rumen se pueden encontrar una gran variedad de microorganismos. El rango de bacterias en el líquido ruminal va de 25 a 80 billones/ml. y, en cuanto a los protozoarios su cantidad varía de 200,000 a 500,000 por ml. Las bacterias pueden utilizar fibra (celulosa) y formas simples de nitrogenos (Ej: Urea). Además del efecto benéfico anterior producen una gran cantidad de vitaminas hidrosolubles, por lo cual sólo requerirá en la dieta vitaminas A, D y E. El amoniaco producido es resintetizado en proteína microbiana. Los azúcares son degradados en ácidos acético, propiónico y butírico.

De entre las bacterias contenidas en el rumen sobresalen: Bacteroides succinogenes, gram negativa que ataca a la celulosa.

Ruminococcus flavefaciens y R. albus, gram tanto positivo y negativo que digieren la fibra.

Streptococcus bovi, gram positivo importante en la digestión de almidon para varios azúcares.

Methano bacterium ruminatum, gram positivo importante en la producción de metano.

Entre los protozoarios más importantes estan:

Diplodinium dentatum, D.crista-galli, D.eleongatum,
Eudiplodinium neglectum, E.magu.

Tomado de: H.K. Hendericks

COMPOSICION DE A.A. EN PROTEINA MICROBIANA EN RUMEN

<u>NOMBRE</u>	<u>%</u>
Aspártico	11.7
Glutámico	13.4
Arginina	4.8
Histidina	2.2
Lisina	8.8
Cistina	1.1
Metionina	2.1
Prolina	3.8
Fenilalanina	5.1
Tirosina	4.4.
Triptofano	1.5
Glicina	4.9
Alanina	5.5
Serina	4.0
Treonina	5.0
Valina	5.4
Leucina	7.2
Isoleucina	5.9
Amoniac	3.2

CLASIFICACION SIMPLE DE LOS NUTRIENTES

Por nutrientes se entiende "el elemento o compuesto que es requerido en la dieta, y es dado al animal para permitir el funcionamiento normal de sus procesos de vida". (8)

La clasificación más simple de los nutrientes es dividirlos en dos grandes grupos: Agua y Materia Seca. La Materia Seca a su vez es dividida en Materia Orgánica e Inorgánica. La Materia Orgánica está compuesta de carbohidratos, lípidos, proteínas y vitaminas; la Inorgánica por las sales minerales. (8)

Existe además una clasificación que toma en cuenta las fracciones forrajeras (Tabla) que ayuda a explicar mejor la disponibilidad nutricional de los elementos y compuestos que forman un alimento. (8)

AGUA.- El agua dentro del animal es alrededor de un 70% y cumple con las funciones de transportar los elementos nutritivos, controlar la temperatura, como elemento en reacciones bioquímicas y a mantener las células distendidas y firmes (19). Existe una relación negativa entre el contenido de agua en el alimento y el consumo de materia seca; además, el agua contenida en las plantas puede ser correlacionada positivamente con la digestibilidad del alimento (10).

CARBOHIDRATOS.- Los carbohidratos tienen como función el dar energía a los animales, sólo una pequeña parte de ellos es almacenada en forma de glucógeno.

La solubilidad de los carbohidratos es importante debido a que influye en su velocidad de fermentación siendo los más

CLASIFICACION DE FRACCIONES FORRAGERAS

FRACCION	COMPONENTES INCLUIDOS	DISPONIBILIDAD NUTRICIONAL	
		RUMIANTES	NO RUMIANTES
Contenidos Celulares	Azúcares, Carbohidratos Solubles, Almidones	Completa	Completa
	Pectina	Completa	Alta
	Nitrogeno No Proteico	Alta	Moderada o Alta
	Proteína	Alta	Alta
	Lipidos	Alta	Alta
	Otros Solubles	Alta	Alta
	Paredes Celulares	Hemicelulosa	Parcial
Celulosa		Parcial	Baja
Proteína Dañada Por Calor		Indigerible	Indigerible
Lignina		Indigerible	Indigerible

Tomado de: Church and Pond

rápidamente degradables los azúcares simples, posteriormente las dextrinas, almidones y finalmente las paredes celulares, celulosa y hemicelulosas, siendo estas últimas las más solubles y por lo tanto más rápidamente fermentables (14). La fermentación se realiza en los tres primeros compartimientos.

La degradación bacteriana de paredes celulares deja libres los nutrientes celulares, consiguiendo un mejor aprovechamiento de los nutrientes. Del total de los carbohidratos ingestados, una parte se convierte en ácido acético propiónico y butírico y gases como metano y Bioxido de carbono (19).

GRASAS.- La digestión de las grasas se realiza casi totalmente en el tracto intestinal por desdoblamiento por lipasas que producen glicerina y ácidos grasos.

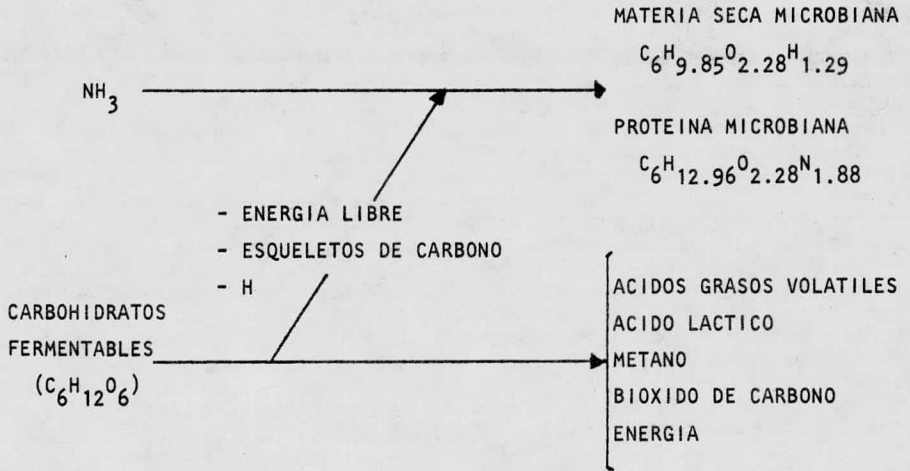
Las grasas suministran alrededor de 2.25 veces más calor o energía por kilogramo en la oxidación que las que proporcionan los carbohidratos debido a que contienen mayor porcentaje de carbono en su molécula (19).

PROTEINAS.- La degradación ruminal de proteínas se realiza por dos procedimientos: Proteólisis y Desaminación, ambas por medio de enzimas microbianas asociadas en su mayoría a células de bacterias y protozoarios. La proteólisis es mayor en cuanto exista una mayor cantidad de microorganismos y no, por la cantidad de proteína en la dieta. Los aminoácidos libres son rápidamente desaminados y convertidos en amoníaco y esqueletos carbonados. Esta actividad es directamente proporcional al tipo de dieta y la susceptibilidad al ataque, por la solubilidad de la proteína (5,9,12). La velocidad de degradación varía grandemente y va de 0 a 165 mg. de proteína /100 ml./hr. (12).

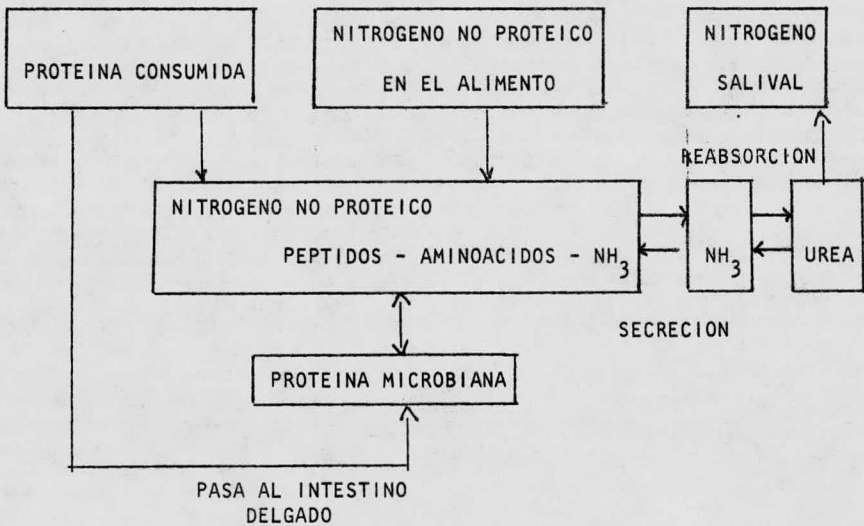
Por lo anterior, muchos de los alimentos comerciales pasan a su degradación posterior en el intestino (5).

Sin embargo, la calidad de la proteína microbiana no es del todo aceptable. Los protozoarios engullen las bacterias y

SINTESIS DE PROTEINA MICROBIANA (12)



METABOLISMO DE NITROGENO EN EL RUMEN (8)



sus requerimientos son similares, en cuanto a sus necesidades de aminoácidos esenciales son similares a las de los animales superiores. En ciertos experimentos se notó que al suplementar metionina se incrementó el número de protozoarios (12). Los tres aminoácidos limitantes son Metionina, Lisina y Treonina (12). Por lo anterior es necesario proteger las proteínas para que su hidrólisis se realice fuera del rumen.

La composición elemental de la proteína microbiana es la siguiente: carbono 43.70%, hidrógeno 7.68, oxígeno 31.69, nitrógeno 14.97 y azufre 0.78. La composición de a.a. en proteína microbiana en tabla (12).

Del 20 al 60% de la proteína escapa de la fermentación (9).

LIGNINA.- La lignina es un elemento importante de los alimentos fibrosos, de estructura no bien conocida, constituida por alcoholes aromáticos polimerizados, sintetizada por la vía del ácido shikímico (24) y no digerible. Interfiere con la digestibilidad de las fracciones de celulosa y hemicelulosa en los alimentos. Es generalmente reconocido que la alta calidad de los forrajes contiene bajos niveles de lignina (8). En pruebas de digestibilidad se utiliza como marcador lo mismo que la fibra detergente ácido (21).

TANINOS Y FENOLES.- Se conoce que los taninos solubles y fenoles tienen una marcada influencia negativa en el valor nutricional. Son usados como protectores de proteína debido a que disminuyen su solubilidad y por lo tanto el ataque microbiano (5,6).

MINERALES.- Los minerales en la nutrición animal cumplen con las siguientes funciones:

- A) Proveer de un soporte estructural como en el caso de calcio y potasio.
- B) Funciones bioquímicas como regulación del pH, presión osmótica, componentes de vitamina B₁₂ (CO₂), metalo enzimas, hormonas (1), antioxidante (se). (7)

CLASIFICACION DE LOS ALIMENTOS

Los alimentos de los animales se clasifican en:

Forrajes

Concentrados

Suplementos

FORRAJES se consideran aquellos alimentos que tienen 18% o más de fibra cruda total y/o baja digestibilidad (entre un 50 y 70% de total de nutrientes digeribles) (7). Sus porcentajes de proteína pueden variar gradualmente desde 3-4% en pajas de trigo o cebada hasta más de 20% en el caso de leguminosas (7). Se dan a los animales en forma de heno, ensilado o pastura. La calidad del forraje se afecta por: tiempo de corte o de pastar, método de cura, variedad y especie, fertilidad del suelo.

De manera general puede decirse que es necesario dar de forraje 1 lb. de heno o un equivalente de éste por cada 100 lb. de peso corporal del animal. El resto de la ración estará formado por concentrados, siendo el costo de los nutrientes digeribles el factor principal que determina la cantidad que se debe dar.

CONCENTRADOS pueden ser de alta energía o proteína dependiendo de la cantidad de proteína cruda que contengan. La National Research Council arbitrariamente marca que para considerar un alimento un concentrado proteico deberá tener más de 20% de proteína cruda y, por lo tanto, para los de alta energía tener un contenido menor de 20% de

proteína cruda y alto contenido de nutrimentos digeribles (+70% generalmente).

SUPLEMENTOS se dividen en: Suplementos de minerales, vitaminas y no nutritivos como antibióticos, antioxidantes, colorantes, saborizantes, etc.

Para los cálculos en las proporciones de las dietas que deben darse al ganado, la NRC publica una serie de tablas de requerimientos mínimos. Para el uso de estas tablas se requiere disponer los siguientes datos: Tipo de explotación (leche o carne), peso del animal y peso ganado diariamente requerido. Con estos datos marca los valores mínimos de materia seca consumida, porciento de forrajes en la dieta, proteína total y digerible, energía neta y metabolizable, total de nutrientes digeridos necesarios y las cantidades de calcio, fósforo y vitamina A que deben ser suministradas diariamente (7, 15).

EVALUACION NUTRITIVA DE LOS ALIMENTOS

La evaluación nutricional de los alimentos se realiza por diferentes métodos, tanto químicos como biológicos. Entre los métodos químicos el más conocido es el análisis aproximado del alimento que determina las cantidades de humedad, cenizas, proteína cruda, grasa cruda, fibra cruda y carbohidratos asimilables. Este análisis menciona poco respecto a lo que el animal obtiene del alimento. Otros métodos desarrollados son la fibra detergente ácido, en la cual se realiza una digestión por detergente en medio ácido y dice la cantidad total de materia indigerible por el animal, la lignina por medio ácido, lignina por permanganato, etc. que en conjunto no logran dar un verdadero soporte en que apoyar la calidad del alimento (6, 7, 8, 16, 19, 21, 22, 23).

Los métodos biológicos se dividen en métodos realizados in vivo e in vitro, estos últimos tienen la ventaja de que no se llevan a cabo, en su mayoría, con presencia del animal, ser de menor duración y menor costo. De los métodos realizados para evaluar la calidad del alimento in vitro, los únicos que presentan una alta correlación con respecto a los métodos in vivo son la técnica de Tilley y Terry y el de la bolsa de nylon (2, 6, 23).

Los métodos in vivo más usuales son los siguientes:

- 1.) Coeficiente de Digestión o Digestibilidad Aparente (8, 15), que es el porcentaje de un determinado ingrediente que se calcula sea absorbido por el animal. Su fórmula general es la siguiente:

$$= \frac{\text{Nutriente consumido} - \text{Nutriente en heces}}{\text{Nutriente consumido}} \times 100 =$$

2) Digestibilidad Aparente, utilizando marcadores como lignina en óxido de cromo (21).

$$100 - \left(100 \frac{\% \text{ indicador en heces}}{\% \text{ indicador en alimento}} \times \frac{\% \text{ nutriente en heces}}{\% \text{ nutriente en alimento}} \right)$$

3) Consumo de Materia Seca (unidades por día) (8).

$$= \frac{\text{Unidades de materia seca por día} \times \text{cantidad de indicador por unidad de heces secas}}{\text{Cantidad de indicador por unidad de materia seca en alimento}}$$

El porcentaje de la digestibilidad no es medida de la verdadera digestibilidad, depende de la especie y el tipo de alimento consumido, y debido a que la materia orgánica contenida puede ser convertida en gases como metano y CO_2 (8, 15, 19).

4) Total de Nutrientes Digeribles, es el método de uso más común para valorizar la cantidad de energía de un alimento. Se determina sumando lo siguiente:

Contenido de proteína cruda	x Coeficiente de digestión de proteína	=
Contenido de fibra cruda	x Coeficiente de digestión de fibra	=
Contenido de extracto libre de N	x Coeficiente de digestión del E L N	=
Contenido de extracto etéreo	x Coeficiente de digestión E E X 2.25	=

CONTENIDO TOTAL DE
NUTRIENTES DIGERIBLES

A pesar de su uso, esta determinación no es sencilla ni precisa. Requiere mucho trabajo y no aclara si el animal utiliza los nutrientes después de haberlos absorbido. Así mismo, ignora el 10% aproximado de energía consumida que se convierte en metano en el rumen y se desperdicia. El factor 2.25 es utilizado para colocar el contenido de energía de la grasa sobre la misma base de proteínas y carbohidratos. (15)

5) Energía Bruta (15).- Es el contenido total de energía de un alimento determinado al quemarlo en una bomba calorimétrica.

6) Energía Metabolizable (15).- Representa la porción de energía bruta que queda disponible para las actividades metabólicas del cuerpo.

$$= \frac{\text{Energía bruta ingerida} - (\text{energía bruta en la orina} + \text{energía bruta fecal} + \text{energía bruta de los gases de combustión (CH}_4\text{)})}{\text{Unidades de alimento digerido}}$$

Es una buena medida del valor de la energía, pero requiere que la pérdida de energía en orina y metano sea determinada.

7) Energía Neta (22).- Es la cantidad de energía bruta que queda disponible para propósitos de mantenimiento y producción.

$$= \frac{\text{Energía bruta} - (\text{E. bruta en orina} + \text{E. bruta fecal} + \text{E. bruta en metano} + \text{incremento calorífico})}{\text{Unidades de alimento ingerido}}$$

Es la mejor medida que se conoce, pero se requiere de una cámara de respiración.

8) Energía Digerible (15).- Se calcula en la siguiente forma:

Energía bruta/unidad x Coef. de digestión para la energía

Este método es comparable al total de nutrientes digeribles en lo que representa. Existe un factor de conversión entre TNT y ED que es:

1b TNT x 2 = Termas de energía digerible

(1 terma = 1,000 calorías)

El cálculo está hecho debido a que una libra de TNT contiene 2,000 calorías de energía digerible (15).

CALIDAD NUTRITIVA DE LOS ALIMENTOS

La calidad nutritiva describe la capacidad de un alimento para cumplir los requerimientos propios de la energía, proteínas, vitaminas y minerales y la determinación de la cantidad consumida, proporción digerida y satisfacción de los nutrientes digeridos en varios procesos metabólicos; esto, influido por las características de las dietas del animal y de las interacciones entre el animal y la dieta (2).

De los factores que afectan el consumo de alimento el más importante es la palatabilidad como resultado de la suma de muchos factores captados por el animal "en el proceso de localización y consumo del alimento y depende de la apariencia, olor, sabor, textura, temperatura y en algunos casos de las propiedades auditivas del alimento" (8). Así mismo, la proteína y la fibra tienen un profundo efecto sobre el consumo voluntario, debido a que el consumo de materia seca se incrementa si la proteína es elevada por arriba de los requerimientos (13).

En vista de lo anterior, es necesario tomar en cuenta como medidas del valor del alimento los siguientes puntos:

- a) Medida de respuesta al crecimiento
- b) Apariencia física, por ejemplo: color en alfalfa
- c) Información cultural, ejemplo: presencia de tóxicos, deficiencia de minerales.
- d) Costo
- e) % de digestibilidad aparente
- f) Composición química

IV PARTE EXPERIMENTAL

El trabajo experimental se realizó siguiendo los pasos dados a continuación:

- 1) Recolección, selección y clasificación del material de estudio.
- 2) Análisis bromatológico.
- 3) Determinación de Fibra Detergente Acido (FDA) y Lignina.
- 4) Determinación de su digestibilidad in vitro.
- 5) Análisis Estadístico de los resultados.

1.- RECOLECCION, CLASIFICACION Y SELECCION DE LOS RESULTADOS:

En la mayor parte de muestras utilizadas se contó con la ayuda de botánicos especializados. La selección de las mismas se hizo tomando en cuenta su contenido de fibra, su uso en la alimentación de ganado en algunas partes de la República o su abundancia. En el cuadro 1 se indica el nombre común, científico y localización de cada una de ellas.

1.1. Muestras de la Familia Leguminosae:

ALVERJON--Se utilizó solamente la semilla. Es una vaina de 20 a 25 cms. de largo con semillas grandes y blancas.

FRIJOL DE MONTE--La semilla en forma de lenteja presenta un sabor sumamente amargo que se elimina del grano al ser cocida y descartada el agua de cocción.

C u a d r o 1

SEMILLAS ESTUDIADAS

NOMBRE VULGAR	NOMBRE CIENTIFICO	LOCALIZACION
- Familia Leguminosae		
Tabachín	<u>Delonix regia</u>	Veracruz y Morelos
Alverjón	<u>Canavalia ensiformis</u>	Veracruz
Frijol del Monte	<u>Phaseolus lunatus</u>	Sinaloa
Parota o Guanacastle	<u>Enterolobium cyclocarpum</u>	Veracruz
Palo Fierro	<u>Pithecellobium undulatum</u>	Sinaloa
Pata de Vaca	<u>Bauhinia purpurea</u>	Morelos
Huizache	<u>Acacia farnesiana</u>	Hidalgo
Mezquite	<u>Prosopis juliflora</u>	Hidalgo
Tamarindo	<u>Tamarindus indica</u>	Gerrero
- Familia Guazima		
Guázumo	<u>Ulmifalia sterculiaceae</u>	Veracruz y Tabasco
- Familia Moraceae		
Capomo	<u>Brosimum alicastrum</u>	Veracruz
- Familia Anacardiaceae		
Mango	<u>Mangifera indica</u>	Veracruz

HUIZACHE--Se conoce su consumo como forraje en áreas rurales. se utilizó la vaina completa.

MEZQUITE--Es una vaina cuyas semillas están cubiertas con una capa de sabor dulce y por esta razón es tomada como golosina, además es usada en la alimentación de puercos durante el invierno.

PALO FIERRO--Vaina de 8 a 10 cms. de largo con pequeñas semillas. Se analizó la vaina completa.

PAROTA O GUANACASTLE--Es una vaina en forma de abanico. Se conoce su consumo tanto por el hombre como por el ganado. Se realizó el estudio en la vaina completa, y vaina y semillas por separado.

PATA DE VACA--La semilla es de forma circular aplanada, de 1 cm. de diámetro.

TABACHIN--Es una vaina de 25 a 40 cms. de largo, de gran dureza. Debido a la gran dificultad para separar la semilla, la molienda se realizó con toda la vaina utilizando un molino de martillos.

TAMARINDO--Debido a que la semilla desprovista de la pulpa no se le conoce utilidad, se incluyó para averiguar su empleo en la alimentación de ganado.

1.2. Muestras de Diferentes Familias:

CAPOMO--De la Familia Moraceae. El ganado la consume en cierta, áreas del país cuando se carece de forrajes convencionales. Otro uso es en la preparación de atoles para mujeres lactantes por atribuirsele propiedades lactogénicas.

GUAZUMO--Es consumida por animales de pastoreo además de ser degustada por niños por su sabor dulce.

MANGO--De la Familia Anacardiaceae. Se realizó el estudio en la variedad de mango criollo debido a que gran parte de la cosecha se pierde por falta de medios de comunicación en las zonas donde se produce y por estar satisfecha su demanda en el

mercado. --- Su estudio se efectuó en tres partes:
La primera parte fue con el mango completo; posteriormente se obtuvo la almendra interior y en tercer lugar usando el mango completo sin la almendra.

2.- ANALISIS BROMATOLOGICO:

El análisis bromatológico se realizó siguiendo las técnicas descritas en el A.O.A.C. (1). Se determino Humedad, Cenizas, Proteína Cruda, Grasa Cruda, Fibra Cruda y Carbohidratos Asimilables por Diferencia.

3.- DETERMINACION DE LA FIBRA DETERGENTE ACIDO (FDA) Y LIGNINA:

3.1. Fundamento.- Una medida más exacta para conocer la calidad de un forraje es la determinación de F.D.A. y lignina. Esta determinación está basada en la disolución de los compuestos asimilables por medio de un detergente (Bromuro de cetil trimetil amonio) en medio ácido durante una hora de reflujo en un aparato de fibra cruda. El residuo es la F.D.A., sobre este residuo se realiza la determinación de lignina la cual se obtiene al digerir con H_2SO_4 24N toda la celulosa y dejar solamente la lignina.

3.2. Aparatos:

3.2.1. Se empleó el Aparato de Reflujo Labconco para fibra, Vasos Berzelius de 600 ml. y condensadores de 500 ml.

3.2.2. Se utilizó un crisol de vidrio poroso Pyrex, utilizando porocidad de cuarzo de 40-50 ml. Pyrex.

3.2.3. Bomba de vacío y vidriería convencional de laboratorio.

3.3. Reactivos:

3.3.1. Acido Sulfúrico 72% en peso con densidad 1.634 a 20°C 24.00N. Añadir 1,200 g. de H_2SO_4 grado reactivo a 440 ml. de agua destilada en un matraz aforado de 1 l. aforando con agua o ácido según sea requerido.

3.3.2. Solución Acido Detergente. Añadir 20 g. de Bromuro de cetil trimetil amonio grado técnico a un litro de 1.0N H_2SO_4 previamente estandarizado. Agitar al añadir la solución.

3.3.3. Asbesto. El asbesto comercial debe ser lavado con H_2SO_4 al 72%, eliminar la acidez con agua destilada y calcinar.

3.4. Determinación de F.D.A.:

Pesar un gramo de muestra secada al aire y pasada por una malla de 1mm. Pesar en la balanza analítica y poner en un vaso de reflujo. Añadir 100 ml. de solución de Acido detergente a temperatura ambiente, calentar ajustando a ebullición lenta durante una hora. Resuspender el contenido y filtrarlo en un crisol a peso constante usando la mínima succión. Incrementar el vacío sólo si es necesario, cerrar el vacío, separar la parte sólida con una varilla, agregarle agua a 90 - 100°C. Agitar y despues de 15 segundos filtrar. Repetir la operación hasta que esté libre de ácido medido con papel pH. Lavar con acetona tres veces hasta que no salga más color. Eliminar la acetona residual con vacío. Secar en estufa a 100°C durante tres horas o una noche. Dejar

enfriar en desecador y pesar.

3.5. Determinación de Lignina:

Al crisol conteniendo la fibra añadir 1 gr. de asbesto colocar los crisoles en cacerolas esmaltadas, cubrir el contenido de los crisoles con H_2SO_4 al 72%. Remover con agitador la pasta rompiendo todos los grumos. Llenar el crisol con ácido y agitar. Agitar con varilla cada hora reponiendo el ácido eliminado. Mantener el crisol a 20 - 23°C (enfriando si es necesario). Después de tres horas filtrar con vacío tan completamente como sea posible y lavar con agua caliente hasta que este libre de ácido. Secar en estufa durante tres horas o durante una noche, dejar enfriar en desecador y pesar, calcinar a 500°C durante dos horas o hasta que esté libre de carbono, enfriar y pesar.

3.6. Cálculos:

Se registran los siguientes valores

- F.D.A. A) Peso de la muestra
 B) Muestra seca (A x % Materia seca total)
 C) Peso del residuo FDA.

$$\% \text{ FDA} = \frac{\text{peso de residuo o FDA}}{\text{peso de la muestra seca}} = \frac{C}{B}$$

Lignina D) Peso del crisol conteniendo lignina después de secar en estufa.

E) Peso del crisol después de calcinado.

$$\% \text{ LIGNINA} = \frac{D - E}{B}$$

4.- DETERMINACION DE LA DIGESTIBILIDAD IN VITRO

(Modificación de Barnes al método de Tilley y Terry)

4.1. Fundamento:

Por medio de este método se intenta simular el desdoblamiento de algunos componentes de los carbohidratos estructurales en componentes solubles mediante enzimas producidas por microorganismos del rumen bajo condiciones anaerobias y con temperatura y pH controlados. En una segunda etapa la técnica simula el desdoblamiento del material protéico por medio de pepsina, en el tracto intestinal posterior de los rumiantes. La etapa inicial, comprende la incubación de una muestra de forraje con microorganismos del rumen en un medio nutritivo buffer. La segunda etapa comprende la incubación del residuo de la primera etapa en una solución de pepsina - ácido clorhídrico. La cantidad de materia seca que desaparece está estrechamente relacionada a los valores de digestibilidad "in vivo".

4.2. Material:

- 4.2.1. Tubos de ensaye de 100 ml. de plástico o vidrio.
- 4.2.2. Tapones de goma para los tubos mencionados, equipados con válvulas bunsen para dejar el gas (alternativo: tapones perforados con aguja desechable).
- 4.2.3. Papel filtro Whatman # 541.
- 4.2.4. Fuente para producir vacío.
- 4.2.5. Manta de cielo.
- 4.2.6. Termo de boca ancha.
- 4.2.7. Potenciómetro
- 4.2.8. Baño de incubación.

4.2.9. Tanque o fuente de CO_2 .

4.2.10. Equipo convencional de laboratorio.

4.3. Reactivos:

4.3.1. Saliva artificial de Mc-Dougall (las cantidades siguientes son para un litro).

9.80 g. NaHCO_3

7.00 g. $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (3.71 g. anhidro)

0.57 g. KCl

0.47 g. NaCl

0.12 g. $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$

0.04 g. CaCl_2

Se mezclan los primeros cinco reactivos en más o menos 500 ml. de agua destilada en un matraz volumétrico y se agita hasta que se disuelvan. Se ajusta el volumen y se almacena. Antes de usarse se le adiciona el cloruro de calcio, se mantiene a 39°C y se burbujea CO_2 en la solución hasta un pH de 6.8 - 7.0.

4.3.2. Solución de HCl 2N aproximadamente:

200 ml. de HCl concentrado, aforados a 1l. con agua destilada.

4.3.3. Solución de pepsina 5%, 5g. de pepsina (Merck) aforados a 100 ml. con agua destilada.

4.3.4. Inóculo de líquido ruminal filtrado. Se utiliza líquido extraído de rumiante que tenga fístula ruminal y que se ha alimentado regularmente dos veces al día con heno de alfalfa de mediana calidad (12% de pasto), más minerales y sal (si no existe heno de alfalfa se puede utilizar un forraje similar).

Por medio de la fístula se introduce una manguera de una pulgada de diámetro. Esta manguera se une a un

tapón colocado en un matraz Kitazato. El matraz se coloca en el piso dentro de una cubeta con agua a 40°C cubierta con una tela gruesa de color obscuro. Se succiona con bomba de vacío hasta obtener la cantidad requerida. Una vez obtenido el líquido, éste se filtra a través de ocho capas de manta de cielo. El líquido ruminal se colecta a media mañana, dos horas después de que halla comido el animal, pero sin acceso al agua ni alimento durante dos horas. El líquido se transporta al laboratorio en un terno a 39°C, se le burbujea CO₂ durante un minuto y se utiliza inmediatamente.

4.4. Procedimiento:

Las muestras a analizar deben estar secadas al aire y con una humedad menor del 12% y molidas con un tamíz de 1mm. Se pesan exactamente alrededor de 0.5 g. de muestra. Al tubo conteniendo 0.5 g. de muestra se le adicionan 40 ml. de la solución buffer. Se deja estabilizar a 39°C durante 15 minutos adicionándole entonces 10 ml. del líquido ruminal. Se hace pasar CO₂ dentro del tubo durante 15 segundos antes de tapar firmemente con un tapón de hule equipado con válvula bunsen. Se coloca el tubo en el baño maría o incubadora a 39°C. Se realiza la prueba por cuatuplicado y se incluyen cuando menos cuatro blancos que contengan líquido ruminal o buffer. Se incuba durante 48 horas rotando suavemente los tubos a las 2, 4, 20 y 28 horas después de iniciada la incubación para dispersar las partículas. Todas las operaciones anteriores deben hacerse en la obscuridad.

Después de las 48 horas de incubación se remueven los tu-

bos y se mide y registra el pH de los blancos. Agregar 1 ml. de HCl 2N cuidando la espuma, la cual se controla con alcohol amílico. Se repite la operación agragando 2, 4.4 ml. de HCl 2N hasta completar 7.4 ml. por tubo. Se adiciona finalmente 2 ml. de solución de pepsina al 5% por tubo, se rota y se incuban los tubos a 39°C por 48 horas, agitando a las 2, 4, 20 y 28 horas de incubación.

Después de las 48 horas el material de los tubos se filtra a través de papel filtro Whatman # 541 previamente secado a la estufa y tarado. Se seca posteriormente el filtrado en estufa a 105°C durante una noche. El material que permanece en el filtro es la materia seca no digerida. La cual se obtiene por diferencia.

4.5. Cálculos:

Se registran los siguientes valores:

Peso de la muestra secada al aire (A)

Porcentaje de Materia seca en la muestra (B)

Peso del papel filtro tarado (C)

Peso del papel filtro con el residuo (D)

Materia seca inicial $g = \frac{A \times B}{100}$ (E)

Materia seca residual en la muestra $g. E = D - C$ (F)

Materia seca residual en el blanco $g. = D - C$ (G)

Digestión de materia seca in vitro

$$\% = \frac{E - (F - G)}{E} \times 100 =$$

5.- ANALISIS ESTADISTICO DE LOS RESULTADOS:

Con el fin de averiguar si existen correlaciones entre los diversos parámetros estudiados se realizo con los datos una correlación múltiple. (Este estudio fué realizado por el Departamento de Informática del Instituto Mexicano del Seguro Social C M N)

V RESULTADOS Y DISCUSION

Los resultados del análisis bromatológico se muestran en el cuadro 2. El contenido de cenizas es muy semejante en todos los casos, así como los valores de la grasa cruda; siendo los primeros desde 2.82 hasta 6.50% y los segundos variando de 1.06 a 3.28%. El rango de proteína es mucho mayor, pues si bien encontramos en las muestras analizadas porcentajes de 2.32% en la porción A del Mango, algunos porcentajes se elevan hasta valores alrededor de 30% (Alverjón, Frijol de Monte y Pata de Vaca). Los porcentajes de fibra son igualmente variables de 6.52 en la porción B del Mango a 58.97 en el Tabachín. El porcentaje de carbohidratos asimilables, dependiendo en cada caso de los valores de proteínas y fibras crudas varía de 27.77 a valores de 81.86 en la porción B de Mango.

En cuanto a la fibra detergente ácido y lignina (cuadro 3) se encuentra que en las muestras en que se utilizó solamente la semilla sus valores son menores, en general, que en las muestras analizadas en forma completa, como era de esperarse.

Los resultados de la digestibilidad (cuadro 4) tienen unos valores muy diferentes ya que en el caso del Alverjón, Capomo, Guázumo, Mango y Semilla de Parota sus valores son mayores de 80%, mientras que en el Tamarindo y Tabachín sus valores decrecen hasta 21% en el primero y 31.97% en el segundo.

Siguiendo los postulados de la National Research Council

podemos dividir las muestras analizadas según sus valores de fibra, proteína, carbohidratos y digestibilidad en concentrados y forrajes como se estudió anteriormente, la NRC considera que un forraje es aquel que contiene valores mayores de 18% de fibra cruda y digestibilidad baja. Por lo tanto, se puede concluir que las siguientes muestras pueden ser consideradas en su uso como forrajes:

	<u>% FC</u>	<u>% DDM</u>
Huizache	16.26	77.62
Mezquite	41.90	51.88
Palo Fierro	33.16	61.07
Parota Completa	15.85	75.02
Vaina de Parota	15.58	66.49
Pata de Vaca	12.46	62.61
Mango Completo	23.63	82.43

En ciertos casos las muestras no cumplen con los dos, pero sí con alguno de ellos. En general las muestras anteriores adolecen de una baja digestibilidad.

En cuanto al Alverjón, el Palo Fierro y la semilla de Parota puede decirse que son posible fuente de concentrados proteícos debido a que su contenido de proteínas es mayor de 20%, su digestibilidad es alta y su porcentaje de fibra bajo.

El Capomo y Guázumo se pueden considerar como concentrados de alta energía por su alta digestibilidad y valores bajos de proteína y fibra cruda.

El Tabachín y el Tamarindo son dos casos aparte en ambos la proteína es baja lo mismo que su digestibilidad (31.97 en el Tabachín y 21% en el Tamarindo) y la fibra cruda, así como la lignina en el Tabachín demasiado elevada.

El análisis estadístico de los resultados obtenidos se llevó a cabo efectuando una correlación múltiple entre los diferentes parámetros estudiados en el presente trabajo (cuadro 5) y se encuentra que sólo existe correlación entre la F.D.A. y la lignina y F.D.A. y fibra cruda; y que además hay correlación entre la digestibilidad y el contenido de lignina y ésta es correlacionable con el contenido de fibra cruda de la muestra.

COMPOSICION QUIMICA DE DOCE POSIBLES ALIMENTOS PARA RUMIANTES

	<u>Humedad</u>	<u>Cenizas</u>	<u>Proteína</u>	<u>Grasa</u>	<u>Fibra Cruda</u>	<u>Carbohidratos</u>
Alverjón	7.27	3.34	31.15	2.22	14.12	49.17
Capomo	7.97	5.07	13.10	1.06	7.63	73.10
Frijol del Monte	9.00	3.89	28.96	1.64	10.98	45.33
Guázumo	5.83	6.50	16.93	2.57	15.77	58.23
Huizache	5.05	3.90	16.13	3.28	16.26	60.43
Mango completo	9.22	3.60	3.65	2.21	23.63	66.91
Porción A	9.74	3.40	2.32	2.28	25.79	66.21
Porción B	7.94	3.36	6.15	2.11	6.52	81.86
Mezquite	6.99	4.05	14.96	1.53	41.90	37.56
Palo Fierro	6.27	3.89	22.24	3.13	33.16	36.88
Parota completa	4.35	4.15	13.54	1.68	15.85	64.78
Semilla	8.30	3.65	21.29	1.71	16.12	57.20
Vaina	4.04	5.54	8.45	1.72	15.58	69.71
Pata de Vaca	2.15	3.85	29.52	15.05	12.46	39.12
Tabachín	6.98	3.01	9.07	1.18	58.97	27.77
Tamarindo	12.24	2.82	14.61	2.67	12.65	67.25

C u a d r o 3

DETERMINACION DE FIBRA DETERGENTE ACIDO (FDA)

Y LIGNINA

(Expresado en porciento)

	<u>% F D A</u>	<u>% Lignina</u>
Alverjón	11.63	0.85
Capomo	8.78	1.23
Frijol de Monte	14.44	2.32
Guázumo	21.74	2.84
Huizache	19.62	5.79
Mango completo	24.92	5.78
Porción A	28.26	5.83
Porción B	10.35	4.20
Mezquite	45.37	10.36
Palo Fierro	32.29	8.26
Parota completa	22.54	7.23
Semilla	18.78	3.51
Vaina	24.47	9.62
Pata de Vaca	6.65	1.33
Tabachín	60.69	15.30
Tamarindo	26.93	9.36

C u a d r o 4

DIGESTIBILIDAD EXPRESADA EN PORCIENTO

D.S.

Alverjón	94.04	0.66
Capomo	94.69	1.27
Frijol de Monte	78.80	0.92
Guázumo	97.18	1.65
Huizache	77.62	1.08
Mango completo	83.14	2.39
Porción A	82.43	2.54
Porción B	81.73	2.97
Mezquite	51.88	2.46
Palo Fierro	61.07	1.27
Parota completa	75.02	1.06
Semilla	86.30	1.66
Vaina	66.49	0.91
Pata de Vaca	62.61	0.49
Tabachín	31.97	6.45
Tamarindo	21.00	4.8

C u a d r o 5

ANALISIS ESTADISTICO

	R ²	Ec.	F	P
<u>PROTEINA</u>				
Fibra Cruda	0.0491			
Digestibilidad	0.0020			
FDA	0.1033			
Lignina	0.1799			
<u>FDA</u>				
Fibra Cruda	0.8755	$Y = 0.9636 X + 3.5449$	98.52	$P < 0.01$
Digestibilidad	0.3769			
Lignina	0.8228	$Y = 3.1582 X + 5.0743$	65.04	$P < 0.01$
<u>DIGESTIBILIDAD</u>				
Lignina	0.5785	$Y = -0.1438 X + 16.2067$	19.21	$P < 0.01$
Fibra Cruda	0.2280			
<u>LIGNINA</u>				
Fibra Cruda	0.5848	$Y = 0.2262 X + 1.1574$	19.71	$P < 0.01$

VI CONCLUSIONES

Por los datos obtenidos en el presente trabajo se pueden obtener las siguientes conclusiones:

- 1.- Existe una flora silvestre de gran potencial en la nutrición animal que actualmente todavía no es aprovechada, como en el caso de las semillas aquí estudiadas.
- 2.- En los datos obtenidos en el presente trabajo se pueden observar muestras que resultaron con valores altos de digestibilidad y contenido de proteína como: Alberjón, Capomo, Frijol de Monte, Guázumo, Huizache, Parota. Para estas muestras es necesario realizar un estudio más completo que incluya experimentos in vivo, así como un análisis exhaustivo de su composición química.
- 3.- Los resultados obtenidos al estudiar el mango demuestran que es posible utilizar esta fruta en la alimentación de ganado, evitando así su desperdicio en las regiones donde se produce.
- 4.- Por último, es necesario un estudio agronómico para conocer la disponibilidad de las plantas promisorias e investigar otras nuevas fuentes de alimentación para los rumiantes y hacer más versátil su nutrición y poder aprovechar algunos de sus alimentos en la mantención de monogástricos, incluyendo al hombre.

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

- 1) A.O.A.C. Official Methods of Analysis
12^a Edición. Washington U.S.A. 1975
- 2) Ayres J.F., W.R. McManus y J.D. McFarlane. The evaluation of forage nutritive quality by microdigestion. Australian Journal of Experimental Agriculture and Animal Husbandry. Vol. 16 Pag. 473 1976
- 3) Barnes R.V. Collaborative research with the two stage in vitro technique. Proc. National Conference on Forage. Evaluation and Utilization-Lincoln Nebraska 1969.
- 4) Burns J.C. and W.A. Cop. Estimating the nutritive value of forages containing tannin and phenols by chemical and bioassay methods Agronomy J. Vol. 67 P. 72, 74 1976.
- 5) Broderick G.A. Factors affecting ruminal responses to protected amino acids and proteins. Protein Nutritional Quality of Foods and Feeds Part 2, Edited by Mendel Friedman. Marcel Dekker inc. N.Y. 1975.
- 6) Church D.C. Digestive Physiology and Nutrition of Ruminants Vol. 1 Second Edition. Oregon U.S.A. 1976.
- 7) Church D.C. Livestock Feed and Feeding. Portland Oregon U.S.A. 1977.
- 8) Church and Pond. Basic Animal Nutrition and Feeding. Portland Oregon U.S.A. 1974.
- 9) Clark J.H. Nitrogen metabolism in ruminants: Protein solubility and rumen bypass of protein and amino acids. Protein Nutritional Quality of Foods and Feeds Part 2. Edited by Mendel Friedman. Marcel Dekker inc. N.Y. 1975.

- 10) Danker J.D. G.C. Marten, R.M. Jordan and P.K. Bhargava.
Effects of drying on forage quality of alfalfa and reed canarygrass feed to lambs. J. of Animal Science Vol. 42 No. 1 Page 181 1976.
- 11) Harris L.E. Nutrition research technique for domestic and wild animals Vol. I Utah State University 1970.
- 12) Hendericks H.K. Quantitative aspects of the use of non-proteins nitrogen in ruminal feeding. Cuban Journal Agriculture Science Vol. 10 No. 1 Page 1-15. 1976
- 13) John E. and P.T. Chandler. Performance and Nutritive requirements of calves fed varying percentages of protein and tiber. J. of Animal Science Vol. 42 No. 3 Page 724 1976.
- 14) Johnson R.R. Influence of carbohydrate solubility on non-protein nitrogen utilization in the ruminant. J. of Animal Science Vol. 43 No. 1 Page 184 1976.
- 15) Judkins H.F. & H. Keller. La leche: Su Producción y Procesos Industriales. C.E.C.S.A. 4^a impresión. México 1975.
- 16) Marten G.C. et al. Evaluation of laboratory methods for determining quality of corn and sorghum silages II Chemical Methods for predicting In vivo digestibility. Agronomy J. Vol. 67 page 247-251 1975.
- 17) Marten G.C. et al. Evaluation of laboratory methods for determining quality of corn and sorghum silages III Biological and chemical methods for predicting animal intake. Agronomy J. Vol. 68 page 289-291 1976.
- 18) McDougall, E. Studies on ruminal saliva I. The composition and output of sheep's saliva. Doctrem J. Vol. 43 page 99 - 100 (1948).

- 19) Morrison, F.B. Alimentos y alimentación Corporación de fometno de la producción. Ed. Zig -Zag , San-tiago de Chile 1943.
- 20) Lehninger, A.L. Bioquímica. Ediciones Omega, S.A. Bar-celona 1972.
- 21) Pérez-Gil F. El Empleo de Marcadores en Pruebas de Digesti-bilidad. Publicación L-31 de la División de Nutri-ción INN-CONACYT PRONAL Pag. 3-9 México 1976.
- 22) Ríos, A. E. Abernathy and Harold J. Nicholas. Banana peels as a potential source of animal food and other usefull products. Nutrition reports. International Vol. II No. 5 pag. 399 1975.
- 23) Schmid, A.R. et al. Evaluation of laboratory methods for determing quality of corn and sorghum silages. I Biological methods for predicting In vivo diges-tibility. Agronomy J. Vol 67 page 243-246 1975.
- 24) Tagary H. D. Ben Gedalya. Effects of aditon of starch on the utilization by sheep of the protein and crude tiber contained in lucerna Hay and soya-bean meal. J. Agrie, Sci. camb page 413-425 (1971)
- 25) Tilley J.M. and R.A. Terry. A two stage technique for the in vitro digestion of forage crops. J. British grass. Soc. Vol. 28 page 104-111 (1963)