DETERMINACIÓN EN FORRAJES DEL CONTENIDO EN FIBRA NEUTRO DETERGENTE Y DE SUS COMPONENTES: VALIDACIÓN DEL MÉTODO ANKOM®

M. Safigueroa, F.J. Giráldez, A. Gómez, S.López, A.R.Mantecón
Estación Agrícola Experimental. CSIC. Apdo. 788 (24080). León.

INTRODUCCION

El método de Goering y Van Soest (1970), para determinar el contenido en fibra neutro detergente y de sus componentes, se viene utilizando de forma rutinaria en la valoración nutritiva de forrajes. Este método sin embargo, tiene, entre otros, los inconvenientes de que el instrumental científico convencional disponible en el mercado es costoso y que su capacidad de análisis es relativamente limitada.

Con la finalidad de subsanar estas limitaciones, Ankom Technology Corporation® desarrolló un nuevo método que permite una mayor capacidad de análisis. Este nuevo método tiene el mismo fundamento bioquímico que el desarrollado por Goering y Van Soest, pero permite la digestión de varias muestras simultáneamente en un mismo recipiente, eliminando la necesidad de unidades de digestión individuales; característica del instrumental científico convencional.

El procedimiento Ankom comenzó a introducirse en nuestro pais en el año 1995 y en la actualidad son numerosos los laboratorios que emplean este método. Sin embargo, existen pocos estudios publicados en los que se haya contrastado el mismo.

El objetivo de este trabajo ha sido estudiar la validez del método Ankom para la determinación en forrajes del contenido de fibra neutro detergente y de sus componentes.

MATERIAL Y METODOS

Se utilizaron un total de 28 muestras de forrajes de diferentes especies botánicas y estados fenológicos, con la finalidad de conseguir un amplio rango de composición química. Así, por ejemplo, los contenidos de fibra neutro detergente y fibra ácido detergente oscilaron entre 292 y 748 g/kg MS y entre 170 y 489 g/kg MS, respectivamente.

Todas las muestras fueron secadas a 60ºC en una estufa de aire forzado hasta peso constante. A continuación, se molieron en un molino de martillos, utilizando una malla con un tamaño de paso de 1mm.

La determinación de fibra neutro detergente (FND) y de sus distintos componentes: fibra ácido detergente (FAD) y lignina ácido detergente (LAD), se realizó mediante el método secuencial de Goering y Van Soest (1970), empleando el analizador de fibra Tecator, y mediante el procedimiento de Ankom Technology Corporation®. Los contenidos en celulosa (CEL) y hemicelulosa (HCEL) se estimaron por diferencia.

En el método de Ankom se utilizaron bolsas de poliéster, libres de nitrógeno y cenizas (ANKOM Corp. #F_{57}). En cada bolsa, previamente tarada, se pesaron 0,5 g. de muestra. A continuación se selló ésta con calor y se agitó fuertemente para extender la muestra y lograr una distribución uniforme de las partículas en su interior. Una vez preparadas, se colocaron un total de 24 bolsas sobre un suspensor.

El suspensor con las muestras fue introducido en la cubeta de digestión del analizador (Ankom^{200}), rellenándose ésta con 2100 ml de una solución neutro detergente, preparada de la misma manera que en el sistema convencional, con la excepción de que se le añadieron 6 g de sulfito sódico.

La digestión tuvo una duración de 80 minutos, desde el momento en que la temperatura de la solución neutro detergente alcanzó los 100ºC.

Al cabo de este tiempo, se realizó el aclarado de las bolsas, que consistió en 5 lavados, de 5 minutos de duración cada uno, con agua a 90-100ºC. A continuación, se retiraron las bolsas del analizador y se sumergieron en acetona durante otros 5 minutos. Transcurrido este tiempo se retiraron y se dejaron secar al aire durante 1 hora. La desecación se completó en estufa hasta peso constante.

EL contenido en FND se determinó por diferencia entre el peso de la bolsa y el peso de la bolsa con el residuo que permanece después de la digestión.

Para determinar el contenido en FAD, las bolsas con el residuo de FND se incubaron, siguiendo el mismo procedimiento empleado para determinar la FND, pero empleando una disolución ácido detergente de idéntica composición a la utilizada en el método convencional.

Para determinar el contenido en LAD de las muestras, las bolsas con el residuo de FAD se introdujeron en una jarra de vidrio (28 bolsas/jarra) a la que se añadieron 500 ml de ácido sulfúrico al 72%. A continuación se colocaron las jarras en un incubador (ANKOM Daisy [II]), que las mantiene en constante rotación, permaneciendo en el mismo durante 3 horas. Pasado este tiempo, se lavaron las bolsas con agua caliente hasta obtener un pH neutro en el agua de lavado, se aclararon con acetona para remover el agua, se dejaron secar al aire y se completó la desecación en estufa a 100 ºC durante 48 horas. Una vez secas, se pesaron y se incineraron en un horno mufla a 525ºC para determinar el contenido en cenizas.

Los datos obtenidos con los dos métodos se sometieron a un análisis de correlación y se compararon mediante una t para datos pareados. El coeficiente de variación (precisión) para cada método y componente químico se estimó a partir de la varianza residual, considerando la muestra como fuente de variación. Todos los análisis estadísticos se realizaron con el programa estadístico SAS (SAS, 1989).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la tabla 1 se presentan los valores de FND, FAD, LAD, HCEL y CEL obtenidos con los métodos convencional y de Ankom, sus coeficientes de correlación y la precisión de los análisis.

Los valores obtenidos con ambos métodos estuvieron significativamente correlacionados ($P<0,05$) pero, con excepción del contenido en LAD, fueron significativamente ($P<0,05$) diferentes.

Los valores de FND, FAD, HCEL y CEL obtenidos con el método de Ankom fueron inferiores a los obtenidos con el método convencional, siendo la subestimación, por término medio, de un 5,5; 2,6; 10,6 y 2,5%, respectivamente.

Una posible explicación de las diferencias encontradas entre métodos sería la utilización de sulfito de sodio en el de ankom, ya que se ha observado que la adición de este componente a la solución neutro detergente puede provocar, en forrajes, una subestimación del contenido en FND y FAD superior al 5% (Hintz *et al.*, 1996).

La adición de este compuesto químico a las muestras de forrajes permite solubilizar complejos proteicos de otra forma insolubles, formados con glúcidos o compuestos fenólicos (por ejemplo taninos), que, en caso contrario quedarían en el residuo, incrementando el contenido en FND, FAD y LAD. En el presente estudio, parte de los forrajes empleados son especies arbustivas con elevado contenido en taninos. Sin embargo, en estas muestras el grado de subestimación fue similar al encontrado en otros forrajes utilizados, como el heno de alfalfa o el ensilado de maíz, cuyo contenido en taninos es teóricamente despreciable.

Tabla 1: Comparación del método convencional y de Ankom® para la determinación de los contenidos de FND, FAD, LAD, HCEL y CEL: Valores medios (g/kg MS), coeficientes de correlación y precisión de los análisis (coeficiente de variación, %).

	FND	FAD	LAD	HCEL	CEL
Valores medios					
Convencional	474	300	59	174	241
Ankom	448	292	57	156	235
Nivel de significación	***	**	ns	***	**
Correlación					
coeficiente (r)	0,99	0,98	0,99	0,99	0,91
Nivel de significación	***	***	***	***	***
Precisión					
Convencional	2,03	1,72	10,53	4,25	2,75
Ankom	2,00	3,49	6,65	4,11	3,73

ns: no significativo (P>0,05); ** P<0,01; *** P<0,01

Estos hechos, unidos a la ausencia de diferencias entre métodos en la determinación de LAD, a nuestro criterio, resta importancia al papel desempeñado por el sulfito de sodio. Independientemente de ello, Komarek (1993), utilizando idénticas soluciones químicas en ambos métodos, también encontró diferencias en el contenido en FND y FAD, oscilando la subestimación entre un 1 y un 6 %. Este autor atribuyó las diferencias encontradas a una mayor eficacia de lavado de las muestras logrado con el procedimiento de Ankom.

En relación con la precisión de los análisis, cabe señalar que la variación entre réplicas en el método de Ankom fue, con excepción de la determinación de LAD, similar a la obtenida con el método convencional. Por término medio, el coeficiente de variación fue inferior al 5%.

La precisión del análisis de LAD realizado con el método Ankom fue superior a la obtenida con el método convencional, encontrándose, además, dentro de los valores normalmente aceptados.

Los resultados obtenidos ponen de manifiesto diferencias en los valores obtenidos por los dos métodos. No obstante, dado que la técnica de Ankom simplifica el procedimiento de análisis, que la precisión de los análisis es similar y que los valores obtenidos están altamente correlacionados, puede considerarse como un método alternativo al convencional.

AGRADECIMIENTOS

M. Safigueroa disfrutó de una beca predoctoral concedida por el Instituto de Cooperación Iberoamericana. Este trabajo forma parte del contrato de investigación suscrito entre el CSIC y la empresa *"Valles del Esla S.A"*.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AOAC (1990). Association of Official Analytical Chemist, Washington DC.

Goering, H.K. and Van Soest, P.J. (1970). Agricultural Handbook nº379. *Agriculture Research Service*.USDA. Washington.

Hintz, R.W., Mertens, D.R. and Albretch, K.A.(1996). *Journal of AOAC International*, 79,16-22.

Komarek , A.R. (1993). ANKOM Company, Publication nº101. N.Y.

S.A.S. (1989). SAS Institute Inc., Cary, NC, USA.