

VALORACION BROMATOLOGICA DE ENSILADOS DE HIERBA DE LA ZONA LITORAL DE ASTURIAS POR REFLECTANCIA DE INFRARROJOS.

MARTINEZ FERNANDEZ, ADELA; DE LA ROZA DELGADO M<sup>a</sup> BEGOÑA y ARGAMENTERIA GUTIERREZ, ALEJANDRO.  
Centro de Experimentación Agraria. Apdo 13 - 33.300 Villaviciosa - Asturias.

RESUMEN

Sobre un conjunto de 45 muestras de ensilado de hierba procedentes de explotaciones agropecuarias asturianas, se desarrollaron calibraciones por reflectancia en el infrarrojo cercano para determinación de materia seca final previa desecación a 60°C, cenizas, proteína bruta, fibra neutro detergente y digestibilidad con celulasa en un equipo 6250 SYSTEM de Pacific Scientific. La Validación se efectuó sobre 21 muestras de diversos países europeos. Materia seca, cenizas, proteína bruta y fibra neutro detergente fueron estimados con errores estándar aceptables, entre 0,988 y 1,99. La digestibilidad con celulasa presenta más baja exactitud (error estándar=3,94) debido a la complejidad del componente.

Palabras clave: Ensilado, Materia Seca, Cenizas, Proteína Bruta, Fibra Neutro Detergente, Digestibilidad con celulasa, Infrarrojo cercano.

INTRODUCCION.

La calidad de un ensilado de hierba puede ser modificada por gran número de factores. Además de los muchos que afectan a la composición químico-bromatológica del forraje verde inicial (WILSON, 1982), existen otros que actúan sobre el proceso fermentativo. Una alimentación correcta del ganado utilizando ensilado como ración base exige conocer sus principios nutritivos, para diseñar la suplementación adecuada.

En el caso concreto de Asturias, la variabilidad en el valor nutritivo de los ensilados de hierba procedentes de ganaderías particulares (datos no publicados), es de tal magnitud que imposibilita utilizar valores medios. Un servicio de asistencia técnica a los ganaderos necesita el apoyo de un sistema de análisis rápido y seguro.

La determinación y/o estimación de principios nutritivos puede hacerse según muchos criterios (MINSON, 1982) mediante métodos manuales de laboratorio.

Hoy día existe una técnica analítica, simple, rápida y precisa para estos fines (SHENK 1977; BISTON y DARDENNE, 1985; LINDGREN, 1988 y otros). Se trata de la reflectancia espectroscópica en el infrarrojo cercano (NIR), que resultó aplicable al análisis de alimentos, y en particular a los forrajes. Desde la primera publicación de Norris *et al.* (1976), se han llevado a cabo grandes esfuerzos para mejorar la técnica. Posteriores estudios fueron realizados por gran número de autores (SHENK *et al.* 1977, 1978; MARTEN *et al.* 1988; y otros).

En España la valoración bromatológica de forrajes mediante reflectancia en el infrarrojo cercano fue llevada a cabo con éxito por García Criado *et al.* 1977, y otros.

La técnica NIR está basada en la calibración de un espectrofotómetro de infrarrojo cercano mediante muestras de referencia con composición química o valor alimenticio conocidos. La elección de las muestras de calibración es esencial para obtener aceptables resultados de predicción.

El objetivo de este estudio fue desarrollar calibraciones NIR para materia seca (M.S.), cenizas (C.), proteína bruta (P.B.), fibra neutro detergente (F.N.D.) y digestibilidad enzimática con celulasa, (DeNDC) en ensilados de hierba del litoral asturiano.

MATERIAL Y METODOS.

Para el desarrollo de calibraciones, se utilizaron muestras de ensilados de hierba procedentes de diferentes explotaciones agropecuarias de Asturias. Sus contenidos en MS, C, P.B, F.N.D. y DeN.D.C., fueron obtenidos previamente por vía húmeda. El equipo de análisis por reflectancia de infrarrojos fue un modelo 6250 System de Pacific Scientific.

Posteriormente, un total de 21 ensilados de muy variada composición botánica y procedentes de diversos países europeos, fueron empleados para la validación.

#### Preparación de las muestras

Las muestras fueron troceadas y se desecaron alícuotas de 300 gr durante 20-24 horas a 60°C en estufa de aire forzado, para determinar los  $g \times Kg^{-1}$  de materia seca. Se dejaron equilibrar unas horas con la humedad ambiente y se molieron en un molino Pulverisette-15 (Fritch) con tamiz de 0,75 mm.

#### Determinaciones analíticas

- Materia seca final: Según C.E.C. Pérdida de peso a 103°C durante 4 horas (VAN ES. y VAN DER MEER, 1980).

- Cenizas: Incineración a 550°C durante 3 horas (VAN ES y VAN DER MEER, 1980, European *In vitro* Ringtest, 1983).

- Proteína Bruta: Se determinó como N Kjeldahl  $\times 6,25$ . Método macroKjeldahl con un equipo Kjeltex-Auto de Tecator.

- Fibra Neutro Detergente (ROBERTSON y VAN SOEST, 1977) y digestibilidad enzimática de la materia orgánica: Según método "Fibra neutro detergente-celulasa". (RIVEROS y ARGAMENTERIA, 1987)

Los valores medios y extremos de los determinaciones analíticas de las muestras y las intercorrelaciones entre los mismos figuran en el Cuadro N°1.

#### Análisis de Calibración y Validación.

Los datos ópticos en el infrarrojo cercano fueron obtenidos directamente sobre las muestras secas equilibradas y molidas al aire, mediante monocromador con barrido entre 1100 y 2500 nm. Los espectros fueron recogidos en un ordenador IBM-AT provisto de Software NSAS, diseñado por Pacific

Cuadro 1.- Composición químico-bromatológica ( $g \times Kg^{-1}$ ) y digestibilidad enzimática de la materia orgánica (%) de las muestras de ensilados.

	Set de calibración					Set de validación				
	MS	C	PB	FND	DeNDC	MS	C	PB	FND	DeNDC
Valor máximo	960.5	180.4	190.3	682.3	73.7	914.2	135.0	212.7	637.2	71.3
Valor mínimo	849.5	55.4	59.3	442.8	35.3	846.8	59.7	93.2	419.3	39.0
Valor medio	921.2	102.6	118.3	562.2	53.5	879.5	95.8	134.1	545.5	54.9
Desviación Típica.	26.8	25.5	31.5	73.6	12.3	20.4	23.0	27.5	65.0	9.5
Coefficiente de Correlación	1.0000	-.0449	.01840	.23780	-.12388	1.0000	.68663	.50597	-.63137	-.15647
		1.0000	.26521	-.48727	.41970		1.0000	-.04469	.14295	-.33040
			1.0000	-.75174	.67690			1.0000	-.65491	.65578
				1.0000	-.89930				1.0000	-.91494
					1.0000					1.0000

Scientific Co. Las células de medida empleadas fueron las estándar para forrajes desecados y molidos, de la firma anterior.

Se obtuvieron seis espectros por muestra, llenando tres células diferentes y efectuando dos barridos por célula, en posición inicial y tras giro de 180°. Posteriormente se promediaron y se procedió a calibrar.

La selección de longitudes de onda óptimas o de cocientes entre las mismas se realizó mediante el Software de Pacific Scientific, que permite obtener ecuaciones lineales de hasta 4 términos, previa selección de derivada, segmento y gap por regresión según Norris, siguiéndose los siguientes criterios: no eliminar ninguna muestra en el análisis de regresión, que los coeficientes de las ecuaciones fuesen lo más bajo posible, que las longitudes de onda elegidas fuesen características del componente a medir y no de otros correlacionados con éste, poniendo especial atención en evitar correlaciones internas entre las longitudes de onda seleccionadas. Al trabajar con las derivadas de los espectros se redu-

ce la influencia del diferente grado de molienda y distinta compactación de la muestra en las células de medida.

En el conjunto de muestras de validación, una vez promediados se efectuó la validación propiamente dicha, consistente en el análisis de regresión entre los valores convencionales de laboratorio y los calculados por NIR.

#### RESULTADOS Y DISCUSION.

Cuadro 2.- Longitudes de onda elegidas para calibración de componentes químico-bromatológicos y digestibilidad enzimática en ensilado de hierba mediante reflectancia en el infrarrojo cercano.

	MS	C	PB	FND	DeNDC
Derivada	2ª	3ª	2ª	2ª	2ª
$\lambda_1$	1820	1246	2168	1178/1214	2278
	1962	2358	2296/1286	2284/1852	1622/2374
	1764	2244/1810	1978/1592	2372/1976	1664/1522
	2326	2144/1872	1462/1706	1536/1952	
R	0,9558	0,8660	0,9718	0,9634	0,9572
ESC	0,826	1,33	0,779	2,07	3,70

Cuadro 3.- Resultados de predicción de componentes químico-bromatológicos y digestibilidad enzimática en ensilados de hierba.

	Bias	R	Slope	ESP
MS	0,0087	0,839	0,854	0,988
C	-0,417	0,451	0,966	1,84
PB	-2,85	0,818	0,988	1,31
FND	-0,336	0,970	1,121	1,99
DeNDC	-0,363	0,829	0,957	3,94

Para la materia seca, la  $\lambda$  principal de 1820 nm, al igual que 1764 y 2326 no son características de  $H_2O$ , sino de celulosa según Osborne y Fearn (1986). Sin embargo estos resultados son concordantes con los obtenidos por Biston y Dardenne (1985) para el  $H_2O$ , los cuales las consideran características de la misma.

No obstante, hay que tener en cuenta la gran higroscopicidad de la celulosa, hecho que se manifiesta por una cierta correlación entre FND y MS según se deduce del Cuadro N°1.

La  $\lambda$  1962 concuerda con la obtenida como principal para forrajes verdes en nuestros anteriores trabajos (DE LA ROZA *et al*, 1989). Comparando con esos resultados, intervienen más longitudes de onda y la precisión es inferior. Ambas cuestiones cabe imputarlas a la pérdida de otros materiales volátiles juntamente con el agua.

En sus trabajos sobre materia seca en ensilados Abrams *et al* (1988), obtienen una correlación más alta ( $R=0.99$ ), pero un ESC mucho más elevado (1,80).

Para cenizas la estimación no es muy precisa. La  $\lambda$  principal 1246 ha sido seleccionada para lignina por Workman y Dieterman (1984). Las otras  $\lambda$  coinciden con las elegidas por otros autores para la celulosa, materia grasa, fibra e incluso proteína. Todo esto hace imposible saber si se están valorando enlaces que ligan minerales a la matriz orgánica, o si las  $\lambda$  elegidas son un reflejo de los componentes mayoritarios de la misma. No obstante, tanto los errores de calibración, como los de predicción resultan inferiores a los hallados por Biston y Dardenne (1985) en su trabajo sobre contenido en cenizas totales de ensilados de gramíneas. De los términos seleccionados para proteína bruta, tenemos que la  $\lambda$  principal y 1978, 2296, 1462 son características de proteína, aminoácidos y enlaces peptídicos según Osborne y Fearn (1986). El resto es concordante con los resultados de otros autores que los consideran relacionados con este componente. Podrían representar formas de nitrógeno no protídico.

A pesar de que el ESP (1,31) es más elevado que el hallado por otros autores para este mismo tipo de muestras

(ABRAMS et al 1988; otros), hay que tener muy en cuenta la gran variabilidad inherente al conjunto de muestras empleadas para la validación (distinto país, preparación, molino, etc.)

Para FND y DeNDC se han obtenido algunas  $\lambda$  próximos a bandas principales de celulosa (2284, 2278 nm) y hemicelulosa (2372, 2374 nm).

La  $\lambda$  principal elegida para FND (1178 nm), no es característica de ningún carbohidrato soluble o estructural, pero es coincidente con los resultados obtenidos en el CEA sobre forrajes verdes (DE LA ROZA et al, 1989), siendo imprescindible que figure como principal para obtener una calibración y validación aceptable.

Con respecto a los errores estándar, para DeNDC resultan algo elevados comparados con los de otros autores para digestibilidad de la materia seca (NORRIS et al, 1976; otros), pero también lo es el intervalo de variación.

Se considera, por tanto, que las calibraciones obtenidas son satisfactorias teniendo en cuenta el amplio intervalo de variación y la heterogeneidad de las poblaciones utilizadas.

No sería desacertado realizar posteriores estudios para la obtención de ecuaciones de predicción aplicables por igual a hierba verde y a ensilados, puesto que los obtenidos en este trabajo para MS, PB y FND una vez aplicadas sobre forrajes verdes no dan resultados discordantes.

#### BIBLIOGRAFIA

- ABRAMS S.M., SHENK J.S., HARPSTER H.W. (1988). Potential of near infrared reflectance spectroscopy for analysis of silage composition. *Dairy Sci* **71** 1955-1959.
- BISTON R.y., DARDENNE P. (1985). Prevision de la qualite des fourrages en vue de leur exploitation rationnelle. *Bull. Rech. Agron. Gembloux*. **20**: 23-41.
- GARCIA B., LEON L., GARCIA A. (1977). Determinación directa de proteína, NDF, ADF, lignina, DNDF y DMD en plantas herbáceas mediante reflectancia de infrarrojos. *Pastos* **7**, 112-126
- LINDGREN E. (1988). Prediction of energy value and protein content of forages by near infrared reflectance spectroscopy *Swedish J. Agric. Res.* **18** 21-26.

-MARTEN G.C., HALGERSON J.L., SLEPER D.A. (1988). Near infrared reflectance spectroscopy evaluation of ruminal fermentations and cellulase digestion of diverse forages. *Crop Sci.* **28**: 163-167.

-MINSON D.J. (1982). Effect of chemical composition on feed digestibility and metabolizable energy. *Nutr. Abs. Rev. (B)* **52**, 591-615.

-NORRIS K.H., BARNES R.F., SHENK J.S. (1976). Predicting forage quality by infrared reflectance spectroscopy *J. Anim. Sci* **43**: 889-897.

-OSBORNE B.G. y FEARM T. (1986). Near Infrared spectroscopy in food analysis. Longman Group. U.K. Limited. Longman House, Burnt Mill, Harlow Essex CM202JE, England.

-RIVEROS G.E., ARGAMENTERIA A. (1987). Enzymatic methods for predicting organic matter in vivo digestibility. *In Vitro News Letter* **3**, 11-14.

-ROBERTSON J.B., y VAN SOEST P.J. (1977). Dietary fiber estimation in concentrate feedstuffs. *J. Anim. Sci.* **45** (Sup.1).

-DE LA ROZA B., ARGAMENTERIA A., MARTINEZ A. (1989). Valoración bromatológica de praderas de la zona litoral de Asturias mediante reflectancia de infrarrojos. 2ª Reunión Ibérica de Pastos y Forrajes. Badajoz-Elvas 10-14 abril.

-SHENK J.S., NORRIS K. H., BARNES R.F. y FISSEL G.W. (1977). Forage and feed-stuff analysis with infrared reflectance XIII th international grassland congress, Leipzig, 18-27 May 1977, 455-464.

-SHENK J.S., WESTERHAUS M.O. y HOOVER M.R. (1978). Infrared reflectance analysis of forages. First international grain and forage harvesting conference proceedings 1977. 25-29 Sep. ASAE, St. Joseph, Mich, 242-244.

-WILSON J.R. (1982). Environmental and nutritional factors affecting herbage quality (In) HACKER, J.B. (Ed.). *Nutritional Limits to animal production from pastures*. Comm. Agric. Bureaux (United Kingdom), 11-131.

-WORKMAN J.J. y SA DIETTERMAN. (1984). Routine forage analysis using NIRA: Calibration and performance data. Int. Symp. on Near Infrared Reflectance Analysis (NIRA), 7 th, Tarrytown, New York. 10-11 July. Technicon Industrial Systems, Tarrytown, New York.

#### NUTRITIVE VALUATION OF GRASS SILAGE IN THE COASTAL PLANES OF ASTURIAS BY NEAR INFRARED REFLECTANCE SPECTROSCOPY.

##### SUMMARY

A total of 45 grass silage samples proceeding of individual farms, calibrations were obtained for determination by infrared reflectance spectroscopy in air-dried (60°) material, of dry matter, ash, crude protein, neutral detergent fibre contents and cellulase digestibility. The equipment used was a Pacific Scientific 6250 System.

The calibrations were validated using 21 samples from different countries european. MS, C, PB y FND was predicted with acceptability, ESP of 0,988 to 1,99. DeNDC shows low accuracy (ESP 3,49) because of constituent complex.

**Key words:** Silage, Dry matter, Ash, Crude protein, Neutral detergent fiber, Cellulase digestibility, Near infrared reflectance spectroscopy.