



MANUAL DE PRÁCTICAS DE NUTRICIÓN





ÍNDICE

	Página
I. CONTENIDO.....	4
II. PRESENTACIÓN.....	4
III. ESTRUCTURA DEL MANUAL.....	5
IV. PRACTICAS.....	5
V. ACTUALIZACIÓN.....	12





Manual de Lineamientos del Laboratorio de Prácticas. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Autónoma del Estado de México. Toluca, México; 25 de febrero de 2013.

Segunda Edición:

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECCIA

Director:

Dr. En C. Mauro victoria Mora

Elaboró:

DR. IGNACIO DOMINGUEZ VARA
DR. MANUEL GONZALEZ RONQUILLO
MC. SUSANA GOÑI SEDEÑO

Revisó:

DR. JOSE L. BORQUEZ G.
DR. MANUEL GONZALEZ RONQUILLO
MC. SUSANA GOÑI SEDEÑO





I. CONTENIDO

El presente manual es una guía sencilla para orientar al estudiante que cursa la unidad de aprendizaje (UA) de NUTRICION en la realización de las prácticas que apoyan los conceptos teóricos abordados durante el desarrollo del curso.

II. PRESENTACIÓN

La unidad de aprendizaje Nutrición Animal es una **unidad de aprendizaje obligatoria del núcleo sustantivo** que se imparte a los alumnos del 5to. período, tercer grado. Antecede al curso Alimentos y Alimentación y se aborda en sesiones teóricas y prácticas **de laboratorio**; éstas últimas, se presentan en este manual ya que son parte fundamental en el desarrollo del curso.

La Nutrición Animal trata sobre la utilización de los nutrientes en el animal, aportados por los alimentos e incluye el conocimiento de las diversas reacciones químicas y procesos fisiológicos que los transforman en tejidos corporales. Permite conocer y comprender los procesos digestivos por los cuales los animales domésticos obtienen los nutrientes del alimento, así como la naturaleza y velocidad de las reacciones metabólicas, balance entre los procesos de síntesis y degradación, así como la eficiencia de utilización por el animal.

Históricamente la Nutrición Animal ha sido de interés para el hombre, en principio por la alimentación propia y después porque es a través de la observación de experimentos con animales que se conocieron los principios nutritivos para el hombre, y la respuesta de él hacia ellos. **Asimismo**, la Nutrición Animal fue desarrollándose para atender la producción animal y salvaguardar la salud de los animales, como principio rector del quehacer del profesional de la Medicina Veterinaria. El estudiante del programa de Médico Veterinario Zootecnista tiene la necesidad de observar los principios básicos de la Nutrición para poder aplicarlos prácticamente en el diseño de programas de alimentación específicos para distintas especies de animales.

En esta unidad de aprendizaje se han desarrollado las prácticas con el apoyo de los laboratorios de prácticas y de Bromatología. Este último, apoya de modo específico las actividades de análisis químicos para conocimiento de los insumos nutricionales, ya que cuenta con la infraestructura para ello. Las prácticas que se han venido desarrollando, en ocasiones con variantes, se presentan en este manual, de modo sencillo pero conteniendo los elementos que toda práctica debe tener.





III. ESTRUCTURA DEL MANUAL

IV. PRACTICAS

PRÁCTICA 1. LOS ALIMENTOS Y SU CLASIFICACIÓN

OBJETIVOS

- a) Conocer distintos tipos de ingredientes y alimentos ultimados en dietas para especies pecuarias
- b) Identificar su clasificación de acuerdo con las normas internacionales (AFFCO Association of American Feed Control Officials) que los ha agrupado en ocho clases, cada uno designado por un número en paréntesis.

- (1) Forrajes secos y rastrojos
- (2) Praderas, plantas de agostaderos y forrajes dados frescos
- (3) Ensilados
- (4) Alimentos energéticos
- (5) Suplementos proteicos
- (6) Suplementos minerales
- (7) Suplementos vitamínicos
- (8) Aditivos

La práctica se desarrollará en la planta de alimentos, praderas, silos, y campos de cultivos (Posta Zootécnica FMVZ) y laboratorio de Bromatología.

MATERIALES

- Bata
- Charolas de papel
- Espátulas
- Balanza granataria y analítica
- Lápiz y cuaderno
- Guías de clasificación (AFFCO, INRA)
- Ingredientes

METODOLOGÍA

El alumno se presentará al Laboratorio de Bromatología con una muestra de cada categoría de alimento para animales (ingrediente o mezcla). Hará observaciones pertinentes sobre características físicas (color, olor, textura, densidad) para integrarlas al reporte. Realizara el AQP (análisis químico proximal) según la AOAC (1990) y fracciones





de fibra (Van Soest, 1991) para clasificar los materiales según las normas de AFFCO e INRA. El análisis químico será presentado por el alumno, con etiquetas que pueden acompañar los materiales de estudio. El alumno recibirá información sobre el método de muestrear y la forma de presentar los alimentos a un laboratorio de análisis para cuando ese servicio sea requerido o para recolectar de modo eficaz la cantidad de alimento que desea ser observado. El AQP y fracciones de fibra se observa en seguida.

ALIMENTO	AQP				FRACCIONES DE FIBRA		
	MS, %	PC, %	EE, %	CENIZAS, %	FDN, %	FDA, %	LDA, %

El estudiante procederá a clasificar los materiales nutritivos y hará una sinopsis que se presentará como reporte de la práctica, agregando fotografías de los materiales.

CUESTIONARIO

1. De los ingredientes analizados en el laboratorio, compare su contenido de proteína cruda (PC), materia seca (MS), cenizas, y fibra detergente neutro (FDN) con el **apoyo de datos bibliográficos** (tablas bromatológicas)
2. Cuáles son los criterios para considerar o clasificar a algunos alimentos como energéticos o proteicos?
3. Escribe la diferencias entre “alimento” y “nutriente”
4. ¿Cuál es el nutriente que “varía” más en cuanto a su presencia en los alimentos?
5. Indica las similitudes y diferencias entre las formas de clasificar a los alimentos por la AFFCO y el INRA.

BIBLIOGRAFIA

1. AOAC, 1990. Official Methods of Analysis of the Associations of Official Analytical Chemists. 15 th edition. Vol II. USA.
2. AFFCO Association of American Feed Control Officials. Champaign, IL USA.
3. INRA, 1985. Alimentación de animales monogástricos, cerdo, conejo, aves. Edit. Mundi-Prensa.
4. Van Soest, P.J.1991. Methods for dietary fiber, neutral detergent fibber and no starch polysaccharides in relation to animal nutrition. Journal Dairy Science.74:3583-3597.





PRACTICA 2. IMPORTANCIA E IDENTIFICACIÓN DE MICROORGANISMOS RUMINALES

OBJETIVOS

- a) Identificar las principales especies de microorganismos del rumen (bacterias y protozoos), y con base en la información de Dehority (2003) hacer los esquemas de las características de lo observado en el microscopio
- b) Analizar la importancia de los microorganismos ruminales en el ecosistema del rumen y la interacción con los alimentos y el animal

La práctica se desarrollará en la Posta Zootécnica de la FMVZ, lab. Bromatología y lab. de prácticas FMVZ.

MATERIALES

- Rumiante canulado de rumen
- Vasos de precipitado 205 ml
- Agua destilada tibia (30°C)
- Solución amortiguadora
- CO₂ (gasear para mantener anaerobiosis)
- Baño maría
- Termo para colección de líquido ruminal
- Manta de cielo
- Microscopio 10X, 20X, portaobjetos, cubreobjetos
- Bata, guante largo
- Cubrebocas
- Pipeta Pasteur
- Vidrio de reloj
- Matraz Erlenmeyer
- Lápiz y cuaderno

METODOLOGÍA

El alumno acudirá a la Posta Zootécnica para obtener una muestra de líquido ruminal mediante toma directa a través de cánula en rumen de un bovino u ovino disponible. Para ello utilizará guante de palpación y tomará 200 ml de líquido ruminal y lo meterá al termo para cerrarlo de inmediato y trasladarlo al laboratorio. Otra cantidad similar de muestra de líquido ruminal será colocada en un vaso de precipitado con agua destilada y solución amortiguadora en cantidades iguales; lo tapara con vidrio de reloj y trasladara al laboratorio igualmente. Del termo se hará filtración hacia un matraz Erlenmeyer, a través





de cuatro capas de manta de cielo colocadas en embudo de filtración rápida. Se tomara unas gotas de líquido filtrado con la pipeta y se colocará en un portaobjetos. Enseguida hará las observaciones y deberá dibujar las características morfológicas de los microorganismos (Hungate, 1966). Lo mismo se hará con unas gotas del vaso de precipitado que se obtuvo de una segunda muestra de líquido en la Posta. Finalmente, hará un reporte de la práctica indicando los resultados:

- a) Dibujos de microorganismos ruminales
- b) Discusión de la importancia del ecosistema ruminal (microorganismos, alimento, temperatura, pH)
- c) Manipulación del ecosistema ruminal para mejorar la alimentación pecuaria

CUESTIONARIO

1. Mencione los tipos de microorganismos del rumen
2. Explique la importancia de las bacterias y protozoarios ruminales
3. Discuta la interacción del alimento-microorganismos ruminales-animal
4. Que diferencias se observaron en la motilidad de los microorganismos provenientes de las dos formas de manejo del líquido ruminal. Explique la respuesta.

BIBLIOGRAFIA

1. Van Soest PJ.1994. Nutritional ecology of the ruminant. Cosmotock Publishing Associates USA.
2. Hungate, R. E. 1966. The rumen and its microbes. Academic Press, New York and London, pp. 8–90.

PRACTICA 3. DIGESTIBILIDAD DE LOS ALIMENTOS

OBJETIVOS

- a) Estimar la digestibilidad *in situ*, *in vivo* e *in vitro* de ingredientes o alimentos

La práctica se llevará a cabo en la posta zootécnica FMVZ, Laboratorio de Bromatología y área metabólica.





MATERIALES PARA DIGESTIBILIDAD IN SITU

10 tipos de alimentos (ingredientes o mezclas)

Bolsas de nylon (poro 40-50 micras)

Animal fistulado de rumen

Balanza analítica

Molino Willey

Estufa

Agua destilada

Guantes

METODOLOGIA

Digestibilidad in situ

Pesar 5 g de materia seca (MS) de cada tipo de alimento, procesado en molino Willey con malla de 2 mm y colocar en bolsas de nylon previamente secadas en estufa a 100° C y pesadas. Amarrar muy bien para evitar que se pierda muestra, utilizando hilo de nylon se colocarán las muestras en rumen de un animal fistulado, sosteniéndolas de la propia tapa de la cánula. Dejar **durante** 48 h y retirar las bolsas, lavar en agua corriente hasta que salga liquido claro (sin restregar las bolsas), dejar escurrir y meter a la estufa de secado con aire forzado a 65°C hasta peso constante; enseguida pesar para estimar la materia seca parcial residual. De aquí tomar una muestra para cenizas y colocar en mufla a 500°C por 4 horas; otra muestra se coloca a 100°C para estimar MS total.

Digestibilidad in vivo

Utilizar 1-2 animales fistulados o intactos con el fin de estimar la digestibilidad in vivo aparente (Pond et al., 2002). Se alimentará al animal (ovinos, caprino, bovino, cerdo, conejo) con una cantidad conocida del alimento, ingrediente o dieta, se pesara el rechazo y se hará recolección total de heces y orina, guardando en congelación el 10%. Se estimará la digestibilidad de la materia seca (DMS) y digestibilidad de la materia orgánica (DMO) con base en el alimento consumido y excretado. Si se colecta orina, se puede **realizar el** balance de nitrógeno (BN) según Orskov (1982).

Digestibilidad in vitro

se utilizaran dos o tres animales fistulados en rumen como donadores de liquido ruminal, para estimar al fermentación ruminal in vitro a través de la técnica propuesta por Theodorou et al., (1994), se pesaran 0.800 g de MS de cinco ingredientes por triplicado (paja cebada, heno alfalfa, ryegrass, maíz grano y soya) a los cuales se les incluirá una





mezcla, por orden (mL/L), agua destilada, solución de micro minerales, 0.12; solución tampón, 237; resazurina al 0.1%, 1.22 (Menke *et al.*, 1979).

- Solución de micro minerales (100 mL): (13.2g $\text{CaCl}_2 \times 2 \text{H}_2\text{O}$) + (10g $\text{MnCl}_2 \times 4 \text{H}_2\text{O}$) + (1g $\text{CoCl}_2 \times 6 \text{H}_2\text{O}$) + (0.8 g $\text{FeCl}_2 \times 6\text{H}_2\text{O}$).
- Solución Tampón (11): (35g NaHCO_3) + (4g $(\text{NH}_4) (\text{HCO}_3)$).
- Solución de macrominerales (11): (5.7g Na_2HPO_4) + (6.2g KH_2PO_4) + (0.6g $\text{MgSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$).
- Resazurina 0.1% (100ml): 0.1g resazurina.

Se deben mantener estas soluciones en refrigeración (para la resazurina no es necesario), posteriormente se mezclan los ingredientes y se calientan a 38°C, burbujeando con CO_2 como se menciona más adelante.

Por otro lado, se muestrea contenido ruminal (líquido y sólido) con ayuda de una bomba de vacío, procedente de dos o tres donadores, los cuales se recomienda que tengan una adaptación a una ración estándar (50:50 heno de alfalfa : paja de cebada) suplementados con un 2 % de minerales. Para la realización de la saliva artificial se adiciona el agente reductor (50mL/L medio: añadir 2 mL 1N NaOH a 47.5 ml de agua destilada, luego añadir 285 mg $\text{Na}_2\text{S} \times 7 \text{H}_2\text{O}$). Añadir a la mezcla de ingredientes (sin incluir líquido ruminal), y burbujear con CO_2 hasta que vire de rosa a incolora. Si hay problemas con este reductor, emplear 3% L-cisteína HCl $\times \text{H}_2\text{O}$ (0.5 g/1 medio), y en tal caso, las proporciones (mL/L) de las distintas soluciones serían: H_2O , 500 mL; sol. Micro minerales, 0.13 mL; sol, tampón, 249 mL; resazurina, 1.28 mL. Para el caso del líquido ruminal, homogeneizar la solución, burbujeando con CO_2 durante 3 minutos y se filtra por 2 capas de gasa (o por colador de malla y capa de gasa).y posteriormente por lana de vidrio para eliminar las partículas pequeñas de alimento y protozoarios. Cuando la mezcla de ingredientes esta incolora, añadir el líquido ruminal y dejar mezclar, agitando y burbujeando con CO_2 durante unos 10 minutos, posteriormente llenar los frascos si se utiliza la técnica de Theodorou *et al.*, (1994), igualando el contenido a 90 mL de solución buffer y 10 mL de líquido ruminal, cerrar la válvula, mezclar agitando e incubar en baño a 38°C. Inmediatamente después de llenar y ajustar los frascos, registrar el volumen inicial (Psi). Agitar a menudo, 1 o 2 veces /h las primeras 3-4 h. Una vez realizada la incubación debemos realizar una serie de cálculos que nos permita conocer la producción real de gas por cada muestra incubada, para ello utilizamos o no un estándar (std) (ej. Paja de cebada, previamente incubada y se conoce cual es la producción de gas) y frascos sin sustrato (blancos, blk)





Cálculos

Sin estándares: se resta el valor medio de los blancos (GPblk) de cada lectura para cada hora (GPX), y se halla la media.

Con dos estándares: Se restan los GPblk de las GPX y de los estándares, se refiere la producción de gas de ambos estándares a una cantidad de muestra fija de 800 mg MS (GPstd). Para validar la tanda de incubación, se divide el valor contrastado de cada estándar con el obtenido en la tanda. Si este valor (Fstd es mayor a 1.1 o menor de 0.9, se debe repetir la tanda. Para calcular la producción de gas (GP, mL/800 mg MS), $GP=(GPX-GP\text{ Oh}-GP\text{ blk}) \times 800(F\text{std } 1 + F\text{std } 2) / 2 \times \text{muestra}$.

Una vez calculados los resultados, para compararlos se puede establecer la curva de degradación del alimento contra el tiempo utilizando la ecuación propuesta por Orskov y Mc Donald, (1979), aunque esta última presenta sus limitaciones al asumir que la producción de gas es constante, o una modificación de la misma, fue propuesta por Khirsnamoorthy *et al.*, (1991) al eliminar la fracción rápidamente degradable (a) al asumir que las primeras horas de incubación son debidas a las bacterias y no al sustrato como tal., sin embargo un modelo que se ajusta más a la realidad podría ser el propuesto por France *et al.*, (1993) en el cual permite estimar de manera más real la producción de gas al estimar que esta no es constante y depende del tiempo de colonización de las bacterias al sustrato. Así, partir de la producción de gas y la composición química de los alimentos a estudio se puede estimar su contenido de energía metabolizable o neta (Menke y Steingass, 1979), la cantidad de MSD, MOD o las diferentes fracciones de fibra (FND; FAD) que han sido degradadas en función de la producción de gas (RGY, mL gas /g MSD) (González Ronquillo *et al.*, 1998).

Los alumnos deberán presentar los resultados de su trabajo de digestibilidad (DMS, DMO) en un reporte que contendrá:

- a) Presentación de resultados de DMS y DMO (cálculos incluidos)
- b) Respaldo con revisión bibliográfica sobre la digestibilidad y factores que la afectan

CUESTIONARIO

1. Describa los principales métodos de estimar la digestibilidad de los alimentos
2. Discuta la importancia de la digestibilidad y los factores que la afectan
3. Qué ventajas tiene la determinación de digestibilidad *in situ* comparada con la digestibilidad *in vivo*?
4. Indicar el nombre de las técnicas estandarizadas de determinación de digestibilidad *in situ* e *in vivo* y las posibles causas de error en su aplicación.





BIBLIOGRAFIA

1. Orskov, E.R and Mc. Donald, I. (1979): The estimation of protein degradability in the rumen from incubation measurements weighted according to rates of passage. J. Agric. Sci. Camb.92: 499-503.
2. McDonald, P., Edwards, R.A. y Greenhalgh, J.F.D. 1988. Nutrición animal. 4a. edición. Edit. Acribia Zaragoza, España. 571 p.
3. Pond, W.G., Church, D.C. y Pond, K.R. 2002. Fundamentos de nutrición y alimentación de animales. 2ª. Edición. Edit. Limusa. 635 p.
4. Menke KH, Raab KH, Salewski L, Steingass A, Fritz H, Schaneider DY. 1979. The estimation of the digestibility and metabolizable energy content of ruminant feeding stuffs from the gas production when they are incubated with rumen liquor in vitro. Journal of Agricultural Science, Cambridge. 93: 217-222.
5. France, J., Dhanoa, M.S., Theodorou, M.K. Lister, S.J. Davies, D.R. and Isac, D. (1993): A model to interpret gas accumulation profiles associated with *in vitro* degradation of ruminant feeds. J. Theor. Biol. 163:99-111.
6. González Ronquillo M., Fondevila, A., Barrios Urdaneta y Newman. (1998): In vitro gas production from buffel grass (*Cenchrus ciliaris* L.) fermentation in relation to the cutting interval, the level of nitrogen fertilisation and the season of growth. Anim. Feed Sci, Tech.72: 19-35.
7. Krishnamoorthy, U., Soller, H., Steingass, H., Menke K.H. (1991): A comparative study on rumen fermentation of energy supplements in vitro. Anim. Physiol. a. Anim. Nutr.65,28-35.
8. Menke Karl Heinz and Herbert Steingass (1988): Estimation of the energetic feed value obtained from chemical analysis and in vitro gas production using rumen fluid. Anim. Res. and Development. 28, 7-45.
9. Theodorou, MK, Williams, B.A; Dhanoa, M.S; Mc Allan, AB and France, J.(1994): A simple gas production method using a pressure transducer to determine the fermentation kinetics of ruminant feeds. Anim. Feed Sci, Tech. 48: 185-197.

V. ACTUALIZACIÓN

Este manual se actualizará periódicamente en función de la evolución de la propia UA para ser un instrumento que apoye y promueva la formación académica del estudiante. Lo anterior, estará sujeto a las observaciones de los titulares de la materia que deberán procurar su modernización y actualización acordes al avance de los conocimientos de la nutrición animal.

