

## Plataforma Producción Predial

# PROYECTO HOMOLOGACION NACIONAL DE RESULTADOS ANALITICOS PARA LA EVALUACION DE FORRAJES Y ALIMENTOS

**Código:** M2P9

**Fuente de Financiamiento:** Fundación para Innovación Agraria (FIA)

**Región o Regiones de Ejecución** El proyecto abarca todas las zonas lecheras del país, desde la Región Metropolitana a la Región de Los Lagos.

**Agente Ejecutor:** Universidad Austral de Chile

**Coordinador del Proyecto:** Ximena Valderrama

**Costos (en pesos):** \$ 6.700.000

## **I. RESUMEN EJECUTIVO**

El objetivo del proyecto fue generar un procedimiento de evaluación consensuado entre laboratorios de análisis de alimentos para animales rumiantes en el país, que permita entregar resultados analíticos homologables. Se estableció un grupo de trabajo con diez laboratorios a lo largo del país, que constituyen el 90% del total. Se realizaron 3 talleres de trabajo y un ensayo interlaboratorios. En los talleres, además de concordar procedimientos para el ensayo interlaboratorios, se conoció la base instrumental y la cobertura analítica de cada laboratorio. Los resultados demuestran que existen diferencias tanto en la reproducibilidad de resultados tanto intra como interlaboratorios. Las diferencias más marcadas se concentran en las determinaciones de fibra detergente neutro y energía metabolizable, que son esenciales en la formulación de raciones para rumiantes. Se acordó en los grupos de trabajo, para el caso particular de estas 2 últimas determinaciones, la necesidad de estandarizar los protocolos analíticos y las metodologías utilizadas para lograr valores confiables entre laboratorios. También se acordó mantener esta actividad en el futuro y continuar realizando ensayos interlaboratorios en forma periódica, debiendo para estos efectos quedar definido un laboratorio que actúe como referente, lo cual requiere de recursos externos al presente proyecto.

## **II. INTRODUCCIÓN Y ANTECEDENTES GENERALES**

Para su existencia, los animales dependen mayoritariamente de los forrajes y en menor medida de los concentrados. Si bien los forrajes proveen los nutrientes a menor costo que los concentrados, son inherentemente más variable en su composición nutritiva, lo cual es producto de factores tales como la especie forrajera, el clima, , la madurez de la planta, el manejo agrícola, etc.

Dada su importancia y reconociendo la variabilidad nutritiva de los alimentos, es de vital importancia que los métodos utilizados puedan confiablemente estimar el valor nutritivo de éstos independientemente del laboratorio del país en que se analicen. Las nuevas metodologías analíticas parecen estar más enfocadas en estimar el aporte de nutrientes directa o indirectamente, como resultado del paso de los alimentos por diversas estructuras del aparato digestivo, que estimar el contenido neto de un nutriente en el alimento. Por otro lado, en algunos países existe una gran presión pública por minimizar el uso de animales quirúrgicamente modificados para estudios de nutrición.

En el país existen diversos laboratorios donde se realizan análisis nutricionales, cada uno utilizando la metodología que le parece adecuada, y entregando resultados que generalmente difieren entre ellos según opinión de los agricultores y plantas de alimentos. Estas diferencias entre laboratorios en el contenido de nutrientes de un mismo alimento compromete el resultado no sólo productivos sino también desde el punto de vista económico.

Por lo anterior, el presente proyecto pretende mediante la realización de un catastro nacional y por medio de talleres y estudios comparativos interlaboratorios, consensuar las metodologías y procedimientos más adecuados para la evaluación nutricional de forrajes y alimentos de uso animal en el país.

### III. OBJETIVOS

#### Objetivo general

Generar un procedimiento de evaluación consensuado entre laboratorios que permita entregar resultados homologables de análisis de alimentos para rumiantes en el país.

#### Objetivos específicos

Recopilar y sistematizar la información a cerca de disponibilidades de equipamientos y metodologías analíticas en los laboratorios de Nutrición del país, para la evaluación de forrajes y alimentos de uso en alimentación animal.

Iniciar la elaboración en forma conjunta de pautas y procedimientos que homologuen y validen los resultados analíticos de una misma fuente alimenticia a nivel nacional creando una red de colaboración, actualización y validación de técnicas y procedimientos

### IV. METODOLOGÍA

#### 4.1 Descripción de la metodología utilizada.

##### 4.1.1 Laboratorios participantes.

Se elaboró una lista de laboratorios nacionales, que realizan análisis de alimentos para rumiantes, tanto a nivel de investigación como para servicio. Se identificó un total de 11 laboratorios de los cuales el 90% accedió a participar en el proyecto de homologación en primera instancia. Los laboratorios que formaron parte del proyecto (asociados) se encuentran distribuidos desde Santiago hasta Osorno.

##### Convocatoria laboratorios nacionales de análisis de forrajes.

Objetivo: Elaborar en forma conjunta pautas y procedimientos que homologuen y validen los resultados analíticos de una misma fuente alimenticia a nivel nacional creando una red de colaboración, actualización y validación de técnicas y procedimientos.

- a. Se realiza un primer contacto telefónico con el encargado de laboratorio o responsable directo con el fin de informar los objetivos del proyecto del Consorcio y la relevancia de que dicho laboratorio participe.
- b. Se envían cartas de invitación a los laboratorios contactados.
- c. Se despacha vía email una encuesta de identificación y caracterización de cada laboratorio participante, como base para una presentación en un primer taller de trabajo (Anexo 1)

#### **4.1.2 Realización de un primer encuentro (Taller I).**

Se trató de un taller informativo y para establecer procedimientos para la realización de un catastro de metodologías y equipamiento analítico de los laboratorios participantes. El jefe de proyecto da a conocer los objetivos del proyecto y propone actividades a realizar. Los laboratorios se dan a conocer a través de presentaciones PowerPoint y entrega de encuesta descriptiva de cada laboratorio analítico (cobertura analítica, cobertura territorial, equipamiento).

#### **4.1.3 Ensayo inter-laboratorios de tipo exploratorio.**

Evaluación diagnóstica de la variabilidad de resultados analíticos entre laboratorios por medio de un estudio de ensayo Inter-laboratorio a partir de muestras patrones preparados por el laboratorio de Nutrición Animal de la Universidad Austral.

##### Envío de muestras

Para el ensayo inter-laboratorio se contó con muestras de forraje (F), heno (H) y concentrado (C). Los laboratorios recibieron 6 muestras (alimentos) que correspondieron a duplicados de F, H y C. Estas fueron secadas a 60°C y molidas por una criba de 1mm y almacenadas en frascos plásticos blancos, debidamente codificadas según tipo de muestra y laboratorio. Junto con las muestras se envió la pauta de procedimientos y formulario de registro de resultados. Cada laboratorio informó los resultados como el promedio de tres replicas (contra-muestras analíticas).

##### Recepción de resultados

- A. Registro de resultados. Junto a las muestras, se entregó un registro de resultados, el que cada laboratorio debía completar y enviar al laboratorio organizador (UACH), por medio del correo electrónico.
- B. Plazo de envío de resultados. Los laboratorios contaron con 21 días hábiles para entregar los resultados. La fecha límite para entregar los resultados, se contaría a partir de la fecha de recepción de las muestras, por parte de los laboratorios participantes.
- C. Contenido informativo del registro de resultados. El registro de resultados tiene el siguiente contenido que debía completarse obligatoriamente.
  - Identificación del laboratorio participante;
  - Identificación del responsable del Laboratorio;
  - Condición del embalaje y de las muestras
  - Fecha de recepción y responsable de la recepción
  - Fecha de realización del ensayo
  - Antecedentes de los métodos empleados

#### 4.1.4 Tratamiento estadístico de los resultados analíticos inter- e intra-laboratorios

Una vez recibidos todos los resultados, se efectuó un tratamiento estadístico a estos. El tipo de análisis realizado dependió del número de laboratorios participantes por análisis. En los casos en que el número fue menor de 8 se determinaron valores promedio, desviación estándar y coeficiente de variación de los resultados. Para el caso donde se tuvieron 8 o más laboratorios participantes se realizaron los cálculos basados en la normativa actual (Leiva, 2006) de análisis inter-laboratorios para cualquier tipo de comparación analítica. Las variables calculadas fueron: Valor medio de referencia, desviación estándar inter-laboratorio y cálculo de Z- score.

Los resultados de cada laboratorio son confidenciales y en todo momento los códigos de identificación de todos los laboratorios son conocidos sólo por el Investigador responsable del proyecto y el jefe de laboratorio correspondiente.

4.1.4.1 Cálculo del valor medio de referencia y Desviación estándar. Para obtener el valor medio de referencia inter-laboratorios se consideraron los valores de los laboratorios LNP005 y LSP008, ya que fueron los que analizaron el 43% de las muestras totales (14.000) recepcionadas durante el año 2008 por los laboratorios participantes. Los resultados de cada análisis químico también fueron evaluados para repetitividad, tolerancia y desviación estándar entre y dentro de laboratorio. Para calcular la desviación estándar, se consideraron aquellos laboratorios que solo informaron los promedios de 3 replicas. Por ende los laboratorios 2 y 11(laboratorio extranjero), quedan excluidos para tal cálculo.

4.1.4.2 Cálculo de Z-score. Para la evaluación del rendimiento de los laboratorios involucrados, se utilizó como criterio el cálculo del Z- score, definido de la siguiente manera:

$$Z = (X_{\frac{1}{2}} - X_{ref.}) / S_L$$

Donde:

$X_{\frac{1}{2}}$  = valor medio para cada laboratorio=  $X_i / r$

$X_{ref.}$  = valor calculado entre los valores medios de los laboratorios 5 y 8

$r$  = número de replicas informadas

$S_L$  = desviación estándar (estimador de la reproducibilidad o variancia entre laboratorios)

En cualquier grupo de datos con distribución normal, los z-scores deberán estar entre el rango de |2| a |3|. Los criterios de aceptabilidad, están definidos por la puntuación obtenida por cada laboratorio, que son clasificados de la siguiente manera:

|Z| =2; es decir, entre -2 y +2, el resultado del laboratorio es **satisfactorio**

2 < |Z| < 3; el resultado del laboratorio es **cuestionable**.

|Z| =3; el resultado del laboratorio es no satisfactorio, es decir, **insatisfactorio**

#### **4.1.5 Talleres temáticos**

##### **Taller I.**

Objetivo General: Recopilar y sistematizar la información a cerca de disponibilidades de equipamientos metodologías analíticas en los laboratorios de Nutrición del país (por medio de encuesta y presentación oral). Conocer la realidad de cada laboratorio en cuanto a tipo de análisis, técnicas analíticas generalmente usadas y cobertura anual que tiene por zonas y volúmenes (por medio de encuesta y presentación oral). Lograr el compromiso de los laboratorios para participar en ensayo inter-laboratorio.

##### **Taller II.**

Objetivo General: Determinar el grado de homogeneidad entre y dentro de laboratorios en los resultados de análisis químicos.

##### Temáticas abordadas:

- a. Metodología de análisis de resultados.
- b. Variaciones intra- e inter-laboratorio de los resultados analíticos
- c. Problemáticas analíticas y causas de variabilidad de resultados obtenidos.
- d. Efecto de la variación inter-laboratorio sobre la formulación y aporte nutricional de la ración.

##### **Taller III.**

Objetivo General: Discutir y proponer un protocolo analítico para la técnica de FDN para mejorar su precisión y reproducibilidad. Análisis de nuevas propuestas metodológicas y generación de acuerdos.

##### Temáticas abordadas:

- a. Equipamiento de digestión utilizado
- b. Calidad y Procedencia de los reactivos utilizados.
- c. Tipo de crisoles utilizados
- d. Medición de pH y uso de antiespumante
- e. Metodología de cálculo de resultados
- f. Número de analistas que interviene en el procedimiento

## **4.2 Adaptaciones o modificaciones introducidas durante la ejecución del proyecto y principales problemas metodológicos enfrentados.**

Para poder cumplir con la comparación de valores analíticos de diferentes alimentos fue necesario realizar un ensayo interlaboratorios con muestras conocidas e iguales para todos. Sin ello hubiese sido imposible lograr los objetivos del proyecto. Dado la investigadora responsable Ximena Valderrama se hizo cargo del proyecto una vez que los presupuestos estaban aprobados los costos de la ronda interlaboratorios debieron ser absorbidos por los laboratorios participantes (costos de los análisis de las muestras de la ronda) ya que para incentivar la participación de los mismos hubo que pagar los costos de traslado y estadía de las personas participantes en los talleres.

## **V. RESULTADOS**

### **5.1 Recopilar y sistematizar la información generada por los laboratorios para la evaluación de forrajes y alimentos del país.**

Se estableció una lista de laboratorios nacionales que realizan análisis de alimentos para rumiantes tanto a nivel de investigación como para servicio. Se identificaron un total de 10 laboratorios de los cuales el 90% accedió a participar en el proyecto de homologación en primera instancia. La convocatoria propuesta se llevó a cabo de acuerdo al programa; realizando contactos telefónicos, enviando cartas de invitación para el taller del día 21 de noviembre. Los laboratorios confirmados recibieron una encuesta para determinar cantidad y tipo de muestras que procesan, metodologías usadas y distribución geográfica de sus clientes. Finalmente participaron en el proyecto 10 laboratorios.

### **5.2. Taller titulado: “1er Encuentro Nacional de Laboratorios de Análisis de Alimentos para Rumiantes.”**

Realizado el 21 de noviembre del 2008 en dónde se discutieron temáticas analíticas y los laboratorios se dieron a conocer, se explicó también el protocolo del primer ensayo inter-laboratorios para evaluar la variabilidad en los resultados analíticos. Posteriormente se incorpora la Escuela Agrícola las Garzas al programa de homologación a sugerencia de los asistentes.

Objetivos:

- a. Presentación de cada laboratorio
- b. Discusión de temáticas analíticas
- c. Presentación Protocolo de Diagnóstico

Encuesta previa (cantidad y tipo de muestras que procesan, metodologías usadas y distribución geográfica de sus clientes). Producto del taller se determinó que entre 8 laboratorios nacionales procesan anualmente un total de 14.000 muestras, de los cuales 2 laboratorios reciben el 43% de ellas. Del total de muestras recibidas aproximadamente el 41% corresponde a forrajes frescos y el 24% a ensilajes. El área de cobertura de muestras abarca desde la V hasta la XIV Región, las entidades que tienen representantes en varias regiones procesan las muestras en un solo

laboratorio. En cuanto a los análisis, el 70% de los laboratorios realiza Análisis Proximal completo; el 90 % lo realiza por química húmeda y el 25% por NIRS. El 75% de los laboratorios realizan análisis de Van Soest (FDA y FDN) siendo el 25% por NIRS como único método o alternativo. El 40% determina energía metabolizable sin embargo, no todos usan las mismas ecuaciones, lo mismo se observa para la determinación de valor D y energía bruta. El 50% determina algún macromineral pero sólo el 63% determina Ca y P. Otros análisis de menor demanda y menos difundidos para servicio a productores son carbohidratos solubles y proteína soluble en que sólo 3 laboratorios tienen implementada la técnica y el almidón en donde sólo un laboratorio lo determina con fines de investigación. La utilidad de estos últimos métodos analíticos no es ampliamente difundida entre los profesionales del agro.

Se analizaron los métodos y cantidades de muestras utilizadas por determinación (MS o PC) observándose que todos los laboratorios utilizan secado a 105°C para MS y Kjeldahl para PC. Se puede inferir que la cantidad de muestra utilizada no afecta directamente los resultados ya que a pesar de que los rangos son amplios (entre 0.2 y 1.0g para PC y, 1.0 y 2.5g para MS) estos no están correlacionados con el valor de los resultados. Otros análisis de menor demanda y menos difundidos para servicio a productores son carbohidratos solubles y proteína soluble en que sólo 3 laboratorios lo tienen implementado y el almidón en donde sólo un laboratorio lo determina con fines de investigación.

### **5.3. Determinar el grado de homogeneidad entre y dentro de laboratorios en los resultados de análisis químicos.**

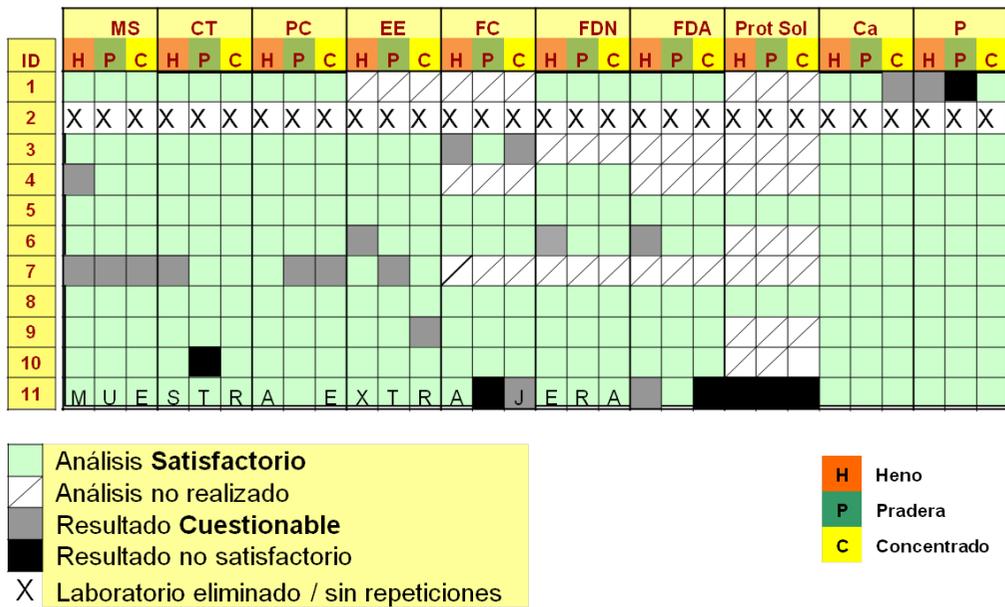
La información analítica recopilada indica que existen diferencias en los resultados (valores) entre laboratorios y dentro de un mismo laboratorio (intra-laboratorios). Para el caso de la MS y PC los métodos utilizados son los mismos sin embargo, algunos laboratorios presentan problemas en la repetitividad de los resultados entre replicas (contra-muestras) de un mismo alimento para las determinaciones del análisis proximal no importando el tipo de alimento (forrajes, concentrado o Heno). Algunos presentan diferencias dependiendo del tipo de alimento, como es el caso de la determinación de PC en concentrados (Lab. 5). Los menos no logran reproducibilidad de sus resultados en los 3 tipos de alimentos testeados (Lab. 1 y 4)

Por otra parte, existen laboratorios cuya reproducibilidad analítica es alta para contra-muestras pero se alejan bastante del valor medio calculado entre laboratorios; un ejemplo es el caso del Lab.7 donde el valor promedio del laboratorio de 99.63% para MS de forrajes fue casi 4 unidades de porcentaje mayor el valor medio de todos los laboratorios fue de 95,78% y casi 5 unidades por sobre la media referencial de 94.36%. Esta diferencia lleva a sobreestimar los valores del resto de los componentes nutritivos del alimento y por tanto formular raciones con valores superiores en aportes nutritivos a los reales trayendo como consecuencia aportes en la ración final del animal menor a los requerimientos por una sobre estimación del valor nutritivo de la materia prima de la formulación.

#### **5.3.1 Determinación del Valor Z y tolerancia**

Para analizar el grado de homogeneidad se utilizó como medida comparativa el valor Z. La medida indica qué tan similares son los valores obtenidos para determinado análisis químico al compararlos con un valor referencial. Sin embargo, solo compara

valores matemáticos dentro de un rango de variación entre laboratorios no considerando la significancia desde un punto de vista de la validez del resultado analítico respecto a la composición química esperada del alimento evaluado. Los valores de Z obtenidos para el análisis proximal (MS, CT, PC, EE, FC) indica que existen problemas puntuales asociados al tipo de alimento (MS:H ID4; EE:H ID6). Todos los valores analíticos se pueden asociar a valores relacionados con los de referencia. Lo mismo se observó para el análisis de Van Soest (FDN y FDA) y, Ca y P. Sin embargo, este tipo de comparación no permite evaluar las implicancias nutricionales en la alimentación animal de las diferencias entre laboratorios de los resultados analíticos (Figura 1) (Anexo 3)



**Figura 1.** Valor de Z score calculado para cada tipo de muestra por análisis para cada uno de los laboratorios participantes

Se hace necesario medir la tolerancia (robustez) (Anexo 4) como indicador del grado de reproducibilidad de los resultados de un método analítico de una misma muestra. De un total de 8 métodos químicos presentados en la figura 2 solo Cenizas totales (CT) estuvo dentro del intervalo de tolerancias para las 3 muestras de alimentos, Fibra cruda (FC) para pradera y concentrado y, solo pradera para materia seca (MS) en todos los laboratorios participantes. Los mayores problemas para cumplir con el intervalo de tolerancia tanto intra- como inter-laboratorio se presentaron en la determinación del FDN, FDA y EM. Diferencias puntuales se adscriben al laboratorio 4, 6, 7 y 10 para algunos alimentos y determinadas técnicas.

ID	MS			CT			PC			EE			FC			FDN			FDA			EM		
	H	P	C	H	P	C	H	P	C	H	P	C	H	P	C	H	P	C	H	P	C	H	P	C
1	■	■	■	■	■	■	■	■	■							■	■	■	■	■	■	■	■	■
2										E	L	M	I	N	A	D	O							
3	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■						
4	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■
5	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■
6	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■
7	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■
8	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■
9	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■
10	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■
11	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■
		t		t	t	t								t	t									

■ No cumple

■ H Heno  
 ■ P Pradera  
 ■ C Concentrado

**Figura 2.** Cumplimiento de valores de tolerancias entre laboratorios, técnica analítica y muestras.

Se hizo necesario determinar si las causas de estar fuera de los intervalos de tolerancia se debían a diferencias entre contra-muestras de un mismo laboratorio o a las réplicas de la muestra analizada. Para ello se compararon las réplicas de cada contra muestras y las diferencias entre contra muestras estimando la diferencia mínima nuevamente el valor de tolerancia para la técnica analizada (Figura 3) (anexo 1). En el análisis se encontró que algunos laboratorios no cumplieron con la tolerancia independiente del tipo de muestra analizada ID:4, en otros no se cumplió en las contra muestra. Sin embargo, el mayor problema se observó en la determinación de FDN en el que las tolerancias no se cumplían casi para ningún laboratorio y muestra de alimentos. Estos casos por lo general se dan en metodologías que requieren de varios procesos de extracción y manipulación de las muestras, agregando elementos que afectan el valor del resultado analítico.

### PROTEINA BRUTA

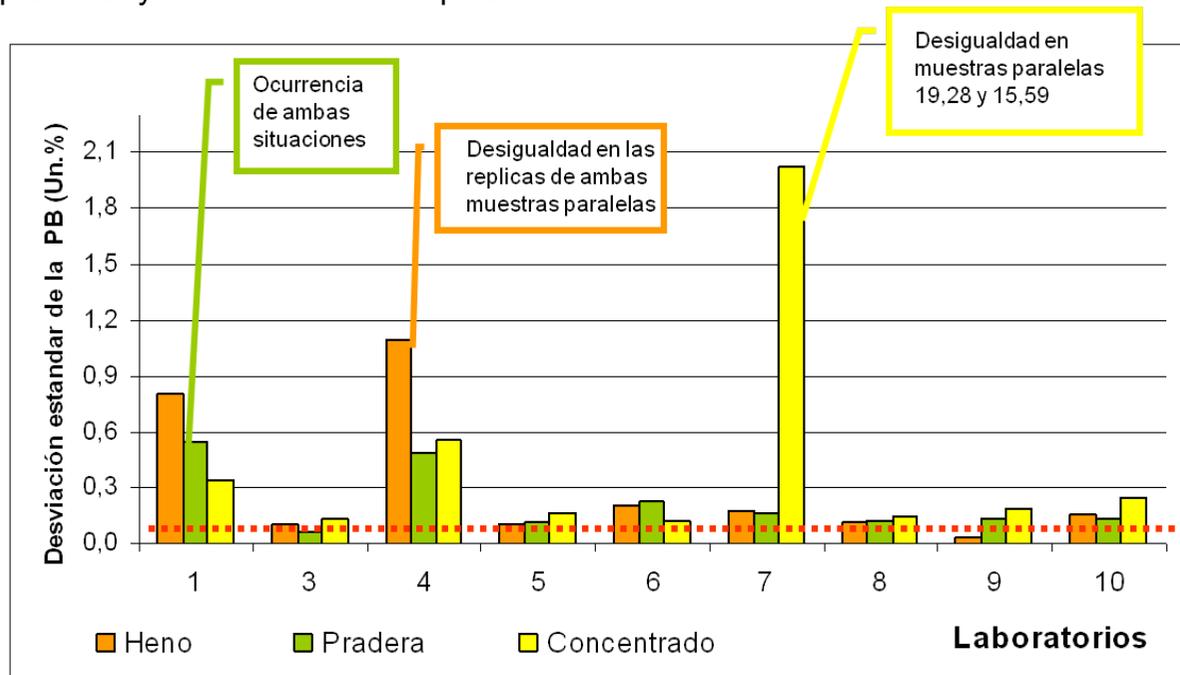
ID	LAB	HENO1	HENO 2	PRAD 1	PRAD 2	CONC 1	CONC 2
1	LIP001	F	F	F	D	D	F
3	LHP003	D	D	D	D	D	D
4	LAP004	F	F	F	F	F	F
5	LNP005	D	D	D	F	D	F
6	LDP006	D	D	D	D	D	D
7	LUP007	D	D	D	D	D	D
8	LSP008	D	D	D	D	D	D
9	LSP009	D	D	D	F	D	F
10	LGP0010	F	D	D	D	F	F
	D	77,8	88,9	88,9	66,7	88,9	44,4

## FIBRA DETERGENTE NEUTRO 0,5

ID	LAB	HENO1	HENO 2	PRAD 1	PRAD 2	CONC 1	CONC 2
1	LIP001	F	F	D	F	D	D
4	LAP004	D	F	F	F	F	F
5	LNP005	D	D	D	D	F	F
6	LDP006	F	F	F	D	F	S/I
8	LSP008	D	F	F	F	F	D
9	LSP009	F	D	F	F	F	D
10	LGP0010	D	F	F	D	F	D
	D	57,1	42,9	28,6	42,9	14,3	66,7

**Figura 3.** Esquematización de las tolerancias de los valores analíticos de cada tipo de muestras en cada laboratorio para proteína cruda y fibra detergente neutro. D: Dentro del intervalo, F: fuera del intervalo de tolerancias

A modo de ejemplo en la figura 4 se muestra para la determinación de proteína bruta las causas de las variaciones en los resultados analíticos de las réplicas de una misma muestra dentro de laboratorio. El laboratorio N°7 presentó diferencias entre muestras paralelas o contra muestras, el N°4 se determinó que la variación fue causada desigualdad de los resultados analíticos entre replicas en muestras paralelas y en el N°1 todos los problemas anteriores.



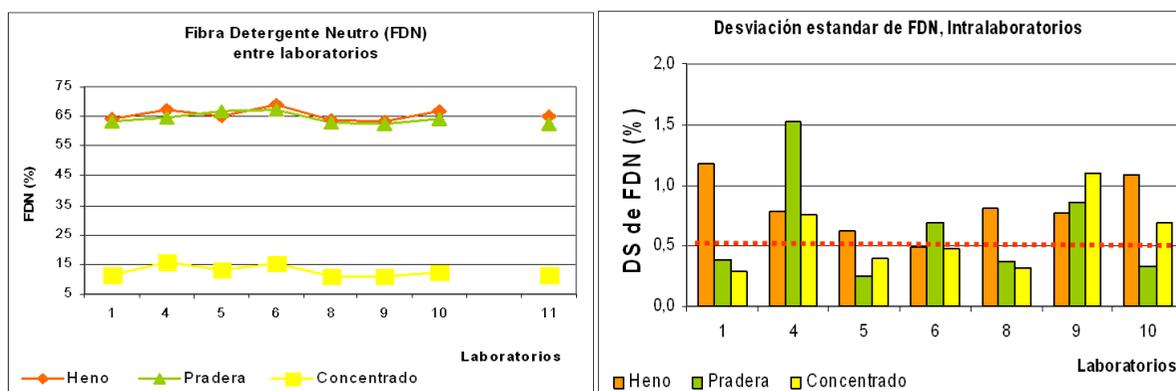
**Figura 4.** Comparación de la variación entre réplicas de una misma muestra (Heno, Pradera o Concentrado) dentro de cada laboratorio para Proteína Bruta

## 5.4. Técnicas analíticas con mayores dificultades

En general se observa para la mayoría de las metodologías analíticas evaluadas presentan problemas de reproducibilidad (tolerancia) asociados a aspectos técnicos más que metodológicos. La determinaciones de fibra detergente neutro (FDN) y Energía metabolizable (EM) fueron las menos difundidas entre laboratorios. Por un lado porque algunos laboratorios son de investigación y se están implementando lentamente y los otros utilizan diferentes tipos de equipamiento aumentando las fuentes de error y en consecuencia afectando el intervalo de valores que puede ser atribuido al analito medido.

### 5.4.1 Fibra detergente neutro (FDN)

Para el caso de la determinación de FDN a pesar de que los valores promedios informados son similares entre laboratorios estos caen fuera del límite de tolerancia aceptado (Figura 5). Las inconsistencias en reproducibilidad son independientes del tipo de alimento analizado tanto inter - como intra-laboratorio lo que llevó a pensar que el problema radicaba en las pérdidas de precisión por la metodología analítica aplicada a la muestra.



**Figura 5.** Resultados analíticos de FDN por laboratorio y desviación estándar intra-laboratorio para una misma muestra (Heno, Pradera o Concentrado)

En el 3er taller se analizaron las posibles fuentes de error en la metodología usada en el protocolo de determinación de FDN por Van Soest. Se detectaron diferencias desde la cantidad de muestra utilizada, procedencia de reactivos, alternativas opcionales del método y la semi-automatización del procedimiento. Los puntos críticos se resumen en la figura 6.

Actualmente existen en el mercado una variedad de marcas de productos para química analítica. En muchos casos la elección de un reactivo o insumo se asocia a disponibilidad y precio. Por otra parte, el método ofrece procedimientos opcionales que se asocian al tipo de muestra a analizar y que muchas veces la decisión de incorporarlos o no pasa por el uso estandarizado permanente independiente del tipo de muestra (uso de antiespumante o tipo de amilasa). Situaciones que deben ser diferencias para evaluaciones en ensilajes de maíz y considerar el uso de amilasa termoestable y antiespumante. Para ello se requiere un conocimiento previo de los componentes nutritivos del alimento por parte del analista. Así mismo, se sabe que el factor humano es un factor de error importante en procedimientos que requieren mayor manipulación de las muestras durante el procedimiento analítico y

preparación de reactivos por tanto el cambio de analista es un factor a considerar también. Se hace necesario establecer un procedimiento estándar entre los laboratorios mejorando los factores causantes de error de manera de lograr un valor con mayor precisión y exactitud dentro y entre laboratorios.

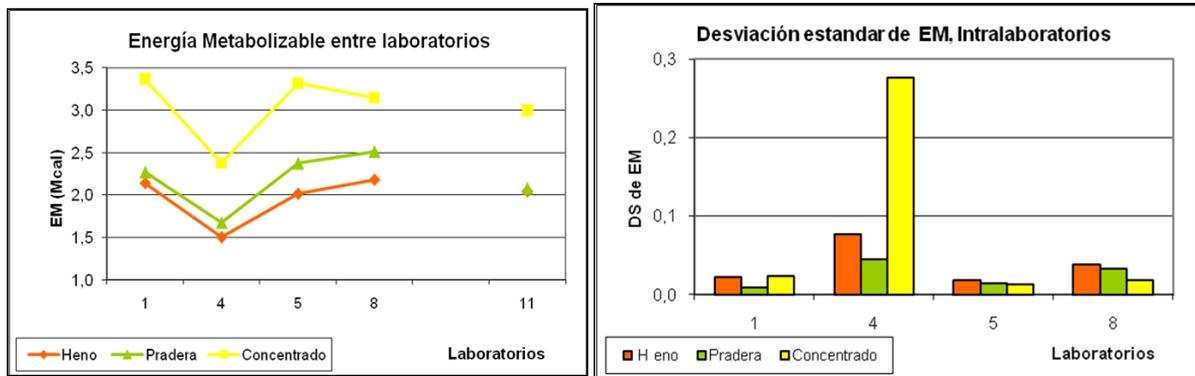
- DIFERENTE CANTIDAD DE EDTA EN EL DETERGENTE NEUTRO
- USO DE ETANOL
- USO Y NO DE AMILASA
- CANTIDAD DE MUESTRA A PESAR
- CALCULOS DISTINTOS (RESTAR O NO LA CENIZA)
- POROSIDAD DE LOS CRISOLES
- SECADO DE MUESTRA A 105°C ANTES DEL ANÁLISIS
- DISOLVER LA AMILASA EN EL 2 ETOXIETANOL
- USO DE 2 ETOXIETANOL (TOXICO)

**Figura 6.** Diferencias encontradas entre laboratorios en la aplicación del procedimiento analítico de Fibra detergente neutro (FDN).

#### 5.4.2 Energía metabolizable (EM)

La técnica de determinación de EM solo la realizan 4 laboratorios. Es el análisis que presenta mayores variaciones. Solo 2 de ellos utilizan el método in vitro con licor ruminal las otras determinaciones son por inferencia matemática a partir de Fibra detergente ácido (FDA) o energía bruta (EB).

Las diferencias entre los valores de energía informados por los distintos laboratorios alcanzan a 0.68, 0.87 y 1.25 Mcal/kg MS en heno, pradera y concentrado, respectivamente (Anexo 3) (figura 7). Estas diferencias representan en promedio una sobre o subestimación del valor verdadero lo que se traduce en una sobre o subalimentación de los animales a nivel predial. El método in vitro es un método biológico que simula adecuadamente las condiciones in vivo sin embargo, requiere de la mantención de un animal con fístula ruminal y el procedimiento analítico toma 5 días. El laboratorio 5 y 8 utilizan el método in vitro y sus resultados son bastante similares. El laboratorio 1 calcula el valor a partir de FDA, a pesar de que logran alta reproducibilidad de resultados para cada alimento los valores de energía estimados son inferiores a los del método in vitro. La inferencia a partir de energía bruta presenta no solo problemas en la reproducibilidad de los resultados sino en la estimación del valor verdadero, siendo para todos los alimentos el valor estimado más bajo (Figura 7).



**Figura 7.** Resultados analíticos para Energía metabolizable por laboratorio y desviación estándar intra-laboratorio para una misma muestra (Heno, Pradera o Concentrado)

## VI. IMPACTOS DEL PROYECTO:

La conformación de un grupo de laboratorios dispuestos a ser evaluados para obtener valores confiables en la composición química de alimentos para rumiantes permite establecer una metodología sistemática de control que perdure en el tiempo. El tener valores confiables entre laboratorios permitiría generar una confianza en la cadena que tendría efecto favorable sobre el sector productivo primario, la industria procesadora y el medio profesional asesor, entre otros, además de constituir un elemento que favorece la precisión en la respuesta económica a la alimentación. Es así como sobre o subestimaciones en los aportes nutritivos de un alimento en la formulación de una ración pueden significar pérdidas económicas ya sea por aportes nutritivos por sobre los requerimientos nutricionales del animal o pérdidas por aportes nutricionales inferiores al nivel productivo estimado.

## VII. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES:

### 7.1 CONCLUSIONES

#### 1. ESTUDIOS INTERLABORATORIOS

Se obtuvieron diferencias en los valores de los resultados analíticos entre laboratorios tanto para una misma técnica como para un mismo tipo de alimento. Estas diferencias fueron mínimas en la determinación de MS, CT y PC encontrándose los duplicados dentro del límite de tolerancia.

La FDN presenta valores muy similares entre laboratorios pero todos caen fuera del límite aceptable de tolerancia (0.5). Los valores EM y EB presentaron las mayores variaciones entre laboratorios. Las diferencias pueden ser atribuidas a distintos métodos utilizados para su determinación (por ecuaciones matemáticas a partir de FDA, por digestibilidad in vitro de la materia orgánica o a partir de la EB). En la práctica significa que si un agricultor manda una muestra a diferentes laboratorios la probabilidad de obtener valores muy disímiles es alta y a su vez la repetibilidad de una muestra dentro del laboratorio es aceptable del punto de vista nutricional pero no tolerable desde un punto de vista del análisis químico. Las

consecuencias nutricionales van desde recibir por parte del laboratorio valores que no representan los contenidos reales de FDN. En el caso de La EM las formas de estimarla son distintas desde el uso de métodos químicos y otros de inferencia matemática lo que hace que entre laboratorios que usan distintas formas de estimarlo las diferencias sean químicamente y nutricionalmente muy significativas. Estas diferencias en ruminantes con llevan a diseñar dietas que subestimen o sobreestimen los valores reales nutricionales del alimento y por lo tanto afecten la producción láctea.

## 2. ESTUDIOS INTRALABORATORIOS

La reproducibilidad del valor analítico se incrementó en los forrajes conservados en forma de heno. Esta baja reproducibilidad se puede atribuir a la dificultad de obtener una muestra homogéneamente molida.

La reproducibilidad de valores dentro del límite de tolerancias en muestras paralelas y en réplicas, es deficiente para la determinación de FDN para cualquier alimento. Dichas diferencias se pueden atribuir a errores derivados del procedimiento analítico.

El proceso de diagnóstico para la homologación de laboratorios en el ámbito del análisis de alimentos para el ganado, indica que los valores de los análisis convencionales (Análisis proximal) a pesar de ciertas diferencias son bastante similares, que los valores de FDN no son reales y que los valores de EM no son comparables entre laboratorios.

## 7.2. RECOMENDACIONES Y PROYECCIONES

- I. Incentivar la Asociación técnica entre laboratorios como una forma de entregar al medio agropecuario información uniforme, válida y actualizada a través de boletines informativos y con el respaldo del Consorcio de la Leche, fortaleciendo la labor de los profesionales del área de alimentación animal.
- II. Crear un Laboratorio Referente que facilite el flujo de la información y que valide anualmente, las técnicas y procedimientos utilizados en la determinación de resultados analíticos de las fuentes alimenticias de los laboratorios participantes. Manteniendo el objetivo de :
  - a. Garantizar la calidad de la información generada.
  - b. Recopilar información, analizarla, difundirla y utilizarla para la toma de decisiones.
  - c. Sostener un liderazgo.
  - d. Asegurar la satisfacción del usuario
- III. Realizar en forma periódica evaluaciones que permitan la homologación de los laboratorios nacionales, como procedimiento permanente, teniendo como base la realización de ensayos inter-laboratorio manejados por un Comité

Técnico, que analice los resultados y genere propuestas tanto generales como individuales para cada método y laboratorio. Debiendo considerar:

- Establecer ensayos periódicos de Aptitud Inter-laboratorio (Proficiency Testing) para asegurar la coherencia y reproducibilidad de los resultados obtenidos.
- Estudiar una estrategia que apunte a resolver los problemas más relevantes entre laboratorios como son la estandarización de metodologías analíticas tanto para la determinación de EM como FDN.
- Optimizar la determinación de MS ya que todos los laboratorios recibieron las muestras parcialmente seca por lo que el procedimiento de preparación de muestras no fue evaluado, siendo fundamental a la hora de asegurar resultados de calidad.
- Implementar técnicas de interés nutricional como son la determinación de proteína soluble, almidones y digestibilidad de la FDN en los laboratorios de mayor participación.

#### **VIII. BIBLIOGRAFÍA CONSULTADA**

BATEMAN, J. 1970. Nutrición animal. Manual de métodos analíticos. México:Centro Regional de Ayuda Técnica. 468 p.

COATES, D. B., P. PENNING. 2000. Measuring Animal Performance. In L. T Mannetje, R.M. Jones.(eds). Field and Laboratory Methods for Grassland and Animal Production Research. CABI. Publishing. CAB International, Wallingford, Oxon. UK, pag. 353 – 403

Leiva M. 2006. Materiales de referencia y comparaciones interlaboratorios. Centro Nacional del Medio Ambiente (CENMA), Universidad de Chile. 108 pp.

GIVENS, D. I., E. OWENS, R.F.E. AXFORD, H.M.OMED. 2000. Forage Evaluation in Ruminant Nutrition. CAB International, Wallingford, Oxon. UK, 480p.

TAMMINGA, S., Y X.B. CHEN 2000. Animal-based techniques for the estimation of protein value in forages. In: GIVENS, D. I., E. OWENS, R.F.E. AXFORD, H.M.OMED. (eds). Forage Evaluation in Ruminant Nutrition. CAB International, Wallingford, Oxon. UK, pp.215-231.

## IX. ANEXOS

### ANEXO 1

Valores promedio de composición química, de referencia y cumplimiento de valor satisfactorio

(Z score)

#### A. Análisis Proximal

Z < 2 \*

Materia Seca Total	Referencia	%MS	CV %	Rango*	9 Lab
Heno	90,31	90,87	0,86	90,05 - 92,40	78%
Pradera	94,36	95,78	1,61	94,34 - 99,66	89%
Concentrado	89,92	90,25	2,27	88,83 - 95,70	89%

Cenizas Totales	Referencia	%CT	CV %	Rango	9 Lab
Heno	5,29	5,18	5,59	4,69 - 5,75	89%
Pradera	5,6	5,72	3,80	5,41 - 6,18	89%
Concentrado	3,08	2,97	6,59	2,61 - 3,22	100%

Proteína Cruda	Referencia	%PC	CV %	Rango	9 Lab
Heno	6,35	6,61	17,98	5,61 - 9,52	89%
Pradera	9,01	9,17	5,23	10,42 - 8,57	89%
Concentrado	16,82	16,73	2,97	15,59 - 19,28	100%

Estracto Etereo	Referencia	%EE	CV %	Rango	8 Lab
Heno	1,34	1,90	29,42	1,05-2,17	89%
Pradera	2,29	3,07	9,72	2,20 - 7,46	89%
Concentrado	5,41	5,23	4,29	1,00 - 6,19	89%

Fibra Cruda	Referencia	%FC	CV %	Rango	6 Lab
Heno	32	32,64	3,88	30,53 - 35,11	86%
Pradera	28,64	29,44	3,76	27,27 - 31,33	86%
Concentrado	2,83	3,15	12,45	2,62 - 3,92	86%

#### B. Análisis de Vam Soest

Z < 2 \*

F. Detergente Neutro	Referencia	%FDN	CV %	Rango	7 Lab
----------------------	------------	------	------	-------	-------

Heno	64,54	66,27	3,05	62,75 - 69,1	87%
Pradera	64,76	64,43	2,98	61,61 - 69,06	100%
Concentrado	12,23	12,91	15,04	10,26 - 15,91	100%
<b>F. Detergente Acido</b>	<b>Referencia</b>	<b>%FDA</b>	<b>CV %</b>	<b>Rango</b>	<b>6 Lab</b>
Heno	39	39,57	1,60	38,55 - 41,32	71%
Pradera	33,9	34,99	3,42	33,43 - 37,85	86%
Concentrado	5,1	5,17	8,60	4,73 - 5,80	86%

\* porcentaje de laboratorios que logran valores de Z menores a 2 son considerados con valores analíticos **Satisfactorios** respecto del valor de referencia

### C. Otros Análisis

					<b>Z &lt; 2 *</b>
<b>E. Metabolizable</b>	<b>Referencia</b>	<b>EM (Mcal)</b>	<b>CV %</b>	<b>Rango</b>	<b>4 Lab</b>
Heno	2,1	1,96	15,89	1,47 - 2,15	100%
Pradera	2,45	2,21	16,74	1,65 - 2,52	80%
Concentrado	3,24	3,06	15,05	2,13 - 3,38	100%

<b>Calcio</b>	<b>Referencia</b>	<b>%Ca</b>	<b>CV %</b>	<b>Rango</b>	<b>4 Lab</b>
Heno	0,3	0,29	9,65	0,25 - 0,35	100%
Pradera	0,34	0,34	4,88	0,32 - 0,37	100%
Concentrado	0,14	0,12	15,50	0,10 - 0,15	83%

<b>Fósforo</b>	<b>Referencia</b>	<b>%P</b>	<b>CV %</b>	<b>Rango</b>	<b>4 Lab</b>
Heno	0,16	0,15	6,94	0,13 - 0,17	86%
Pradera	0,2	0,01	6,98	0,16 - 0,21	86%
Concentrado	0,35	0,35	8,77	0,30 - 0,38	100%

<b>Proteina soluble</b>	<b>%PS</b>	<b>DS %</b>	<b>Rango</b>	<b>2 Lab</b>
Heno	2,74	1,40	1,8 - 4,5	
Pradera	4,61	2,55	2,9 - 7,6	
Concentrado	7,44	5,19	2,9 - 13,3	

<b>Energía bruta</b>	<b>EB (kcal/gr)</b>	<b>DS %</b>	<b>Rango</b>	<b>3 Lab</b>
Heno	4,02	2,69	3 - 4,43	
Pradera	4,45	0,14	4,28 - 4,65	
Concentrado	4,61	0,08	4,56 - 4,79	

\* porcentaje de laboratorios que logran valores de Z menores a 2 son considerados con valores analíticos **Satisfactorios** respecto del valor de referencia

## **ANEXO 2**

<b>Análisis</b>	<b>Nomenclatura</b>	<b>Tolerancia</b>
Materia Seca	MS	0.5
Cenizas totales	CT	0.5
Proteína cruda	PC	0.3
Extracto etéreo	EE	0.3
Fibra cruda	FC	0.5
Fibra detergente neutro	FDN	0.5
Fibra detergente ácido	FDA	0.5