

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID
FACULTAD DE VETERINARIA



TESIS DOCTORAL

**Las proteínas foliares en nutrición animal : contribución a
su estudio en alimentación aviar**

MEMORIA PARA OPTAR AL GRADO DE DOCTOR
PRESENTADA POR

Joaquín Antonio Brufau de Barbera

DIRECTOR:

Francisco Puchal Mas

Madrid, 2015

Joaquín Antonio Brufau de Barbera

P
1981
198



X-53-121024-2

LAS PROTEINAS FOLIARES EN NUTRICION ANIMAL. CONTRIBUCION
A SU ESTUDIO EN ALIMENTACION AVIAR

Departamento de Nutrición y Alimentación
Facultad de Veterinaria
Universidad Complutense de Madrid
1981



BIBLIOTECA

© Joaquín Antonio Brufau de Barbera
Edita e imprime la Editorial de la Universidad
Complutense de Madrid. Servicio de Reprografía
Noviciado, 3 Madrid-8
Madrid, 1981
Xerox 9200 XB 480
Depósito Legal: M-31087-1981

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID

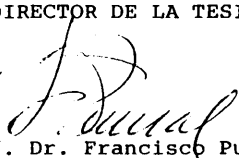
FACULTAD DE VETERINARIA

LAS PROTEINAS FOLIARES EN NUTRICION ANIMAL. CONTRIBUCION
A SU ESTUDIO EN ALIMENTACION AVIAR.

Tesis para aspirar al grado
de Doctor, presentada por D.
Joaquin Brufau de Barbera, li-
cenciado en Veterinaria.

Vº Bº

EL DIRECTOR DE LA TESIS


Prof. Dr. Francisco Puchal Mas

MADRID, 1980

Als meus pares

I N D I C E

	<u>Pág.</u>
1. INTRODUCCION	10
2. REVISION BIBLIOGRAFICA	14
2.1. Origen y evolución histórica de la alfalfa	15
2.2. Clasificación taxonómica y descripción botánica	16
2.3. Composición química de la alfalfa ..	19
2.4. Sistemas de procesamiento y tratamiento de la alfalfa para la conservación	24
2.5. Composición química de la pulpa y solubles	37
2.6. Composición y valor nutritivo del jugo	43
2.7. Composición de la proteína foliar .	51
2.8. Principios tóxicos	55
2.8.1. Inhibidores de las proteasas	57
2.8.2. Factores hemoaglutinantes en la alfalfa	58

	<u>Pág.</u>
2.8.3. Saponinas	58
2.8.3.1. Composición química y estructura de las saponinas.....	60
2.8.3.2. Características ge- nerales, propiedades y usos de las sapo- ninas	65
2.8.3.3. Saponinas de la al- falfa	68
2.8.3.4. Actividad biológica de las saponinas de la alfalfa	71
2.8.4. Tahinos en las leguminosas ..	74
2.9. Producción anual de alfalfa y otras forrajeras en España. Productividad de los sistemas de tratamiento de la alfalfa	76
2.10. Antecedentes en nutrición	84
2.10.1. Factores que influyen sobre su composición y valor nutritivo.	86
2.10.2. Composición nutricional de los concentrados de proteína foliar sin fraccionar	89
2.10.3. Valoración energética	98

	<u>Pág.</u>
2.10.4. Digestibilidad "in vivo" e "in vitro" de la proteína de la alfalfa y concentrados	99
2.10.5. Métodos para mejorar la calidad nutricional en almacenamiento	103
2.10.5.1. Suplementación ...	104
2.11. Utilización en alimentación	107
2.11.1. Consumo humano	110
2.11.2. Especies monogástricas	119
2.11.2.1. Animales de laboratorio	120
2.11.2.2. Concentrado de proteína foliar en broilers	123
2.11.2.3. Concentrado de proteína foliar en gallinas ponedoras .	126
2.11.2.4. Concentrado de proteína foliar en cerdos	128
3. MATERIALES Y METODOS	134
3.1. Centros de trabajo	135

	<u>Pág.</u>
3.2. Animales experimentales	137
3.3. Condiciones generales	138
3.3.1. Alojamiento y equipo experi- mental	138
3.3.2. Programas higio-sanitarios .	140
3.3.3. Normas de manejo	143
3.4. Alimentación y piensos experimenta- les	145
3.5. Controles experimentales	147
3.6. Diseños experimentales y análisis estadístico	149
3.7. Técnicas de análisis	150
3.7.1. Piensos experimentales	150
3.7.2. Determinación de la calidad del huevo	151
3.7.3. Determinación de la pigmenta- ción de los tarsos	153
3.7.4. Determinación de la energía verdadera metabolizable	155
4. ENSAYOS EXPERIMENTALES	162
4.1. Introducción	163
4.2. Ensayos en broilers	163
4.2.1. Ensayo B-1	164

	<u>Pág.</u>
4.2.2. Ensayo B-2	172
4.3. Ensayos en ponedoras	179
4.3.1. Ensayo G-1	179
4.3.2. Ensayo G-2	184
4.3.3. Ensayo G-3	189
4.4. Ensayo sobre energía verdadera meta- bolizable	193
4.5. Determinación de la composición amino- acídica de los concentrados de pro- teína foliar	199
5. DISCUSION DE RESULTADOS	204
5.1. Resultados en broilers	205
5.1.1. Influencia sobre parámetros productivos	206
5.1.2. Influencia sobre pigmentación de la piel	209
5.2. Resultados en ponedoras	210
5.2.1. Influencia sobre parámetros productivos	211
5.2.2. Influencia sobre calidad in- terna y externa del huevo ..	213
5.2.3. Influencia sobre la pigmen- tación del huevo	214
5.3. Composición aminoacídica del C.P.F. de distintos cortes de alfalfa	216

	<u>Pág.</u>
5.4. Valoración de la energía verdadera metabolizable en el coconcentrado de proteína foliar	218
6. CONCLUSIONES.....	221
7. RESUMEN	226
8. AGRADECIMIENTOS	229
9. APENDICES	232
9.1. Tablas de resultados	233
9.2. Análisis estadísticos	298
10. BIBLIOGRAFIA	304

1. INTRODUCCION

INTRODUCCION

La mejora de las condiciones de vida y el crecimiento económico de la sociedad en los países en vías de desarrollo, ha producido un cambio en la balanza comercial agraria. De tal forma que la mayoría de los países con las circunstancias anteriormente expuestas y con contadas excepciones han perdido el carácter de países excedentarios de productos agrarios y se han transformado en deficitarios.

Así, los conocidos planteamientos de la crisis alimentaria mundial, sufrida por una quinta parte de la humanidad, la falta de conocimientos tecnológicos y productivos en las zonas más atrasadas, el escaso interés que tienen los países en vías de crecimiento por la agricultura y la gran dependencia que padecen los países desarrollados del mercado mundial de cereales y tortas de leguminosas han producido una regionalización del problema, surgiendo zonas con grandes dificultades y zonas con capacidad de abastecimiento (Wartman, 1978).

El ya de por sí complicado problema alimentario, se ha visto recientemente agravado por la crisis energética, incrementándose las dificultades propias de los cultivos agrícolas basados en sistemas de transformación industrial con elevadas necesidades energéticas. En consecuencia tiene interés plantear nuevos sistemas de producción agraria,

con un escaso nivel de aporte energético y con altas cotas de producción de productos agroalimentarios.

En este sentido se ha señalado (Gaspar González, 1979) que las posibilidades de aplicación de sistemas productivos agrarios y de industrialización agraria, deben de independizarse frente a los demás sectores de la macroeconomía.

Hoy son muchos los tipos de explotaciones agrarias que no cumplen las indicaciones anteriormente expuestas y que tendrían que reconsiderar su utilidad; ahora bien, la situación de la Agricultura en España y países con idénticas situaciones, es la de maximizar la utilización de nuestros recursos y en este sentido, tanto valor tiene aumentar el número de hectáreas para nuevos cultivos, como la maximización de la productividad a costa de factores de producción foráneos al sector.

El proceso de fraccionamiento vegetal y en especial el de las hojas, es un sistema con unas grandes necesidades en medios de producción de fuera del sector primario; sin embargo, cumple con la maximización de la producción de cultivos, como ocurre con la extracción de la proteína foliar de la alfalfa y a su vez, produce productos sustitutos de materias primas de importación.

En definitiva, quizás la utilización de este sistema,

no aplica medios de producción de bajas necesidades energéticas, pero sí aumenta la capacidad de utilización de cultivos interesantes para la alimentación animal en nuestro país.

Sobre el fraccionamiento vegetal en nuestro país, destacan los trabajos realizados por Galvez (1978), quien justifica su aplicación e indica que gracias a este sistema se aumenta la capacidad productiva en los alfalfares y en general, en cultivos con una riqueza de producción vegetativa infrautilizada.

Es por ello que se consideró de interés contribuir con nuestro modesto estudio a los conocimientos ya existentes, sobre los concentrados de proteína foliar y así mismo determinar su valor nutritivo y posibilidades alimenticias en monogástricos y, en especial en avicultura. En general, el aspecto de nuestro trabajo ha estado destinado a la valoración de la capacidad sustitutiva del concentrado de proteína foliar por otras materias primas con alto contenido proteico, así como por su capacidad pigmentante.

2. REVISION BIBLIOGRAFICA

REVISION BIBLIOGRAFICA

2.1. Origen y evolución histórica de la alfalfa

Antes de iniciar el estudio del valor nutricional y posible interés de las proteína foliares en alimentación animal, hemos considerado de interés hacer un breve resumen histórico del cultivo de la alfalfa, por considerarlo uno de los más interesantes desde un punto de vista forrajero y alimenticio, y ser además, objeto fundamental de nuestro programa de investigación.

La alfalfa se halla extendida en la actualidad por todas las regiones geográficas del globo terrestre, siendo la diversidad de ecotipos y variedades innumerables. Sin embargo, el origen o área geográfica en donde se ubicó el desarrollo de este cultivo fué Asia Menor y sur del Cáucaso. Las vías de expansión y distribución de este cultivo siguieron los mismos cauces que las diferentes civilizaciones. Así, los responsables de su nombre "Médica" e introducción en Europa, fueron los griegos. El nombre impuesto por esta civilización se ha mantenido posteriormente gracias a la civilización latina, siendo este nombre el que ha perdurado como denominación de su género botánico.

Se calcula que su introducción en Europa se remonta

a 470 años antes del inicio de la Era Cristiana, en tanto que su posterior distribución a los nuevos continentes fué realizada por las grandes expansiones colonialistas del siglo XV, siendo los exploradores españoles y centro-europeos los que introdujeron el cultivo de la alfalfa en el continente americano, Africa del Sur y Australia.

La extensión actual del cultivo de la alfalfa alcanza, según datos de Del Pozo (1977) una superficie de cerca de 33 millones de hectáreas, y su importancia y valor nutritivo la ha colocado en cabeza de los cultivos forrajeros más importantes del mundo.

2.2. Clasificación taxonómica y descripción botánica.

Las plantas del grupo de las leguminosas suman un total de más de 12.000 especies y entre ellas se encuentra la alfalfa. De las tres subfamilias en que se subdividen las leguminosas, la alfalfa pertenece a las Papilionoideas, que es la más abundante, con un 73% de las especies de las leguminosas (Burkart, 1943).

Siguiendo asimismo, al autor anterior, esta subfamilia la componen diversas Tribus: Saporeas, Hedisareas, Genisteas, Trifolieas, Faseolas, Vuceas, Dalbergieas, Loteas y Galegueas.

De estas tribus, la alfalfa se encuentra entre las Trifolieas, grupo al que pertenecen las más importantes especies pratenses con que cuenta la Agricultura.

Siguiendo a Burkart (1943), las alfalfas utilizadas por nosotros pertenecen, desde un punto de vista botánico, al Phylum Espermafita, Clase Angiosperma, Subclase Dicotiledoneae, Orden Rosales, Suborden Rosinae, Familia Leguminosae, Subfamilia Papilinoideae, Tribu Trifoloeas, Género Medicago, Especie Sativa, Subespecie Común, Ecotipo Urgell, forma de cultivo: riego por aspersión.

Descripción del Ecotipo Urgell

Considerando la importancia que tiene este tipo de alfalfa para este estudio y para determinar la valoración de estos forrajes ante un proceso industrial como es el de fraccionamiento, hemos creído oportuno revisar y dar una breve descripción de dicho tipo de alfalfa.

La alfalfa utilizada para la obtención de las proteínas foliares objeto de este estudio, procedía de la comarca del Segriá (Lérida) y tenía las siguientes características botánicas:

Raíces: Las raíces de este ecotipo son abundantes, y presentan las características propias de las alfalfas

ubicadas en zonas de regadío, es decir, la profundidad alcanzada por la raíz principal no sobrepasa el metro.

Tallos: La planta tiene un tallo erecto, lo que facilita considerablemente el proceso de la siega. En el caso de la alfalfa Urgell esta característica adquiere un mayor interés por las necesidades de mecanización de la siega en los sistemas de producción actual.

Hojas: En este ecotipo se aprecia una excelente proporcionalidad entre las hojas y los tallos, siendo según Hidalgo (1965) del 0,99, coeficiente de gran valor básico para la obtención de proteínas foliares de forma productiva.

Las hojas en este ecotipo son, al igual que en los demás, trifoliadas y peciladas; los folíolos de las hojas adoptan diferentes formas y siempre resultan ser más o menos de un tamaño ancho, característica importante para su utilización, ya que la hoja es la base total de los componentes nutricionales.

Flor: Las flores son características de la subfamilia Papilionoideae, de unos 8 a 10 milímetros. Del total de las flores de este ecotipo, sólo se presentan en forma variegada una proporción inferior al 4 por 100. La floración es, en cuanto a precocidad, ligeramente posterior a la de los restantes ecotipos españoles, presentán-

dose la floración en primavera posteriormente a la de los ecotipos Navarra, Aragón, Logroño y Mediterráneo.

Fruto: Los frutos de la alfalfa son secos, alargados y comprimidos, adoptando diversas formas con las semillas en línea. Estos frutos mantienen la característica de las dehiscencia, realizándose a través de las suturas dorsales y ventrales.

Semillas: Las semillas presentan un aspecto alargado, enrollado en espiral, de tres a cinco vueltas indehiscentes de un color entre amarillo y marrón oscuro. El peso de las semillas es pequeño; se contabilizan unas 500 semillas por gramo.

2.3. Composición química de la alfalfa.

La composición química de la alfalfa varía según el estado vegetativo de la planta, es decir, la relación o la proporcionalidad interna de los diferentes componentes nutricionales varía según la planta esté en floración, crecimiento o recién cortada.

La alfalfa es una planta forrajera de gran capacidad de rebrote tras el corte, y con grandes posibilidades en cuanto a su eficiencia en la conversión de la energía lumínica en materia orgánica, consecuencia de una buena relación hojas/tallo, y a la vez de una disposición geo-

métrica de las mismas, con gran capacidad de recepción de los rayos solares. Sin embargo, de todas las propiedades que presenta la alfalfa, quizás la más significativa se encuentra en las raíces, las cuales almacenan energía de reserva (hidratos de carbono), que permiten y explican la gran velocidad de crecimiento tras el corte.

El análisis de la alfalfa muestra la presencia de una fracción nitrogenada, responsable de la capacidad de rebrote y variable según el estado vegetativo de la planta; así, siguiendo los datos recopilados por Bettini (1970), podemos comprobar que esta fracción decrece conforme la planta alcanza la madurez, llegando a porcentajes entre 42 a 30%, que no experimentan las variaciones detectadas en los demás parámetros. Asimismo, la proporción de dichas sustancias es inversamente proporcional al nivel de los componentes fibrosos (Treviño y col., 1973), disminución atribuible al crecimiento y a la relación entre hojas y tallos.

Estos cambios en la composición de la alfalfa vienen dados por la mayor proporción de paredes celulares (fracción rica en fibra) en los tallos que en las hojas. Al avanzar el crecimiento de la planta y llegar a la madurez (con la floración), la relación hojas/tallo se invierte, al incrementarse la ramificación y el porcentaje de tallos,

con el consiguiente aumento en la proporción de los componentes fibrosos.

Las materias grasas se hallan presentes en la alfalfa en un nivel reducido, entre un 0,5 y 0,8% de su peso fresco, de 2,0 a 2,5% en el heno y del 4,0 a 4,5% en el ensilado. El hecho de que el ensilado tenga un contenido superior en grasa, viene explicado por el hecho de que mediante la extracción por el método Soxhlet, aparecen en el extracto etéreo pigmentos y ácidos orgánicos que son consecuencia de la fermentación del ensilado.

La fracción cérica está compuesta por una mezcla de ácidos grasos saturados, con un número par de átomos de carbono. Entre los lípidos no saponificables de la alfalfa se cuenta el espinasterol, que al ser activado por la luz solar da lugar a la Vitamina D₂ contenida en los henos, por dicho motivo, las cantidades de esta vitamina son superiores a las otras formas de alfalfa.

Fracción fibra

Al estudiar el cuadro resumen (Tabla I) de las diferencias analíticas entre hojas y tallos (Bolton, 1962), podemos observar como uno de los factores que diferencian con mayor rigor la calidad nutricional entre el tallo y la hoja es el porcentaje de fibra, llegando a ser en el

tallo tres veces superior al de la hoja. Por ello, la relación hojas/tallo tiene gran importancia en la valoración de cualquier variedad, ya que nos indica la contribución de la fibra en la valoración nutricional del forraje.

TABLA I - Composición química de la materia seca de las hojas y tallos

	<u>Hojas</u>	<u>Tallos</u>
Proteína bruta	24 %	11 %
Grasa bruta	3 %	1 %
Extracto no nitrogenado	46 %	37 %
Fibra bruta	16 %	44 %
Cenizas	11 %	6 %

(Bolton, 1962)

Como es sabido, la fibra aumenta según avanza el crecimiento, hasta alcanzarse la floración, aumentando paralelamente la fracción indigestible de la fibra (Watson, 1960).

Fracción nitrogenada

Una de las ventajas que caracterizan al cultivo de

la alfalfa, es su gran capacidad como productora de proteína por hectárea y año. Así pues, la alfalfa compensa su escaso contenido de elementos no nitrogenados, es decir, su parte energética, con un gran valor proteico bruto.

Sin embargo, es preciso tener en cuenta que no todo el nitrógeno de la alfalfa se encuentra en forma de proteína, ya que cerca del 30%, según diversos autores, es nitrógeno no proteico. Ahora bien, esta dificultad representa un inconveniente tan solo en el uso de especies monogástricas, ya que los procesos de transformación propios de la panza de los rumiantes obvian esta dificultad, haciéndola totalmente disponible.

La estructura de la proteína de la alfalfa, es decir, su composición aminoacídica es bastante completa y la mayoría de aminoácidos esenciales, excepto la metionina, se encuentran en proporciones nutricionalmente aceptables. Es de destacar que la marginalidad en metionina, según Del Pozo (1977), es fácilmente subsanada mediante abonos compuestos ricos en azufre.

La mayor parte de la proteína de la alfalfa (más del 66%) se encuentra en las hojas (Revuelta, 1962). En posteriores estudios, realizados por Demarly (1967), se determinó la relación existente entre el porcentaje de hojas, la fase vegetativa de la planta y su valor pro-

tefco, observándose una disminución de la proteína al disminuir el porcentaje de hojas en el forraje.

A fin de valorar con exactitud la composición de la alfalfa, es preciso conocer la dependencia del medio externo, ya sea la climatología o bien el microclima aportado por la forma de cultivo a que se somete; es decir, en este sentido se justifica la variabilidad en estos sistemas de producción.

De una forma general se puede afirmar que los alfalfares son más ricos en proteína durante la primavera y otoño que en verano, en tanto que el valor en fibra invierte el sentido del anterior. Sin embargo, las variaciones estacionales repercuten cada vez en menor grado en la productividad, ya que estas variaciones son eliminadas, mediante sistemas de cultivos y cortes más racionales.

2.4. Sistemas de procesamiento y tratamiento de la alfalfa para su conservación.

La teoría de la regulación de los sistemas de producción de Duckman (1970), es un concepto que sirve para contrarrestar las variaciones estacionales naturales y previsibles en el crecimiento de los vegetales, y en el caso de las plantas forrajeras, para conservar la materia

para épocas de escasez. Esta teoría de la regulación de los eslabones productivos son un conjunto de hechos en los que se apoya la Agricultura y por los que ésta puede aprovechar sus recursos de forma racional.

Los principios básicos que han regido hasta hace poco la conservación de los forrajes alfalfares son la desecación y acidificación (ensilado). En la actualidad, se puede imponer como nueva técnica el fraccionamiento vegetal, sistema básico para la obtención de las proteínas foliares o sustancias proteicas derivadas del jugo obtenido de las plantas forrajeras.

Sistemas de desecación de las plantas forrajeras.

El proceso tradicional e históricamente arraigado para la conservación de la alfalfa, ha sido la desecación natural en el campo o la henificación.

El proceso de henificación, considerado desde un punto de vista nutricional, da lugar a una serie de pérdidas que pueden aumentar o disminuir según sea el manejo del forraje recién cortado, o las condiciones meteorológicas. Una vez iniciado el proceso de secado, todavía se puede considerar a la alfalfa como un planta viva, ya que los procesos respiratorios continúan y, según como se distribuya el material en el suelo, puede también mantenerse la fotosíntesis. Sin embargo, la función que realmente prosigue es la respiración, con la consiguiente

combustión de materia orgánica, en especial azúcares, produciéndose en suma una pérdida de materia de alto valor energético.

El proceso de henificación suele traer consigo un aparente aumento de la fracción nitrogenada, aumento que se debe a la disminución del extracto no nitrogenado, incrementándose con ello la proporción relativa de las materias nitrogenadas.

Los cambios químicos del proceso de la henificación se producen de distinta forma, según se trate de forrajes jóvenes o siegas tardías. En el forraje joven se producen mayores alteraciones, tanto en la digestibilidad como en la composición de los extracto no nitrogenados (Del Pozo, 1977).

Los carotenos existentes en la alfalfa fresca, tras los procesos de henificación, pierden entre un 15 y 20% de su valor inicial durante los primeros días del proceso (Del Pozo, 1977). Sin embargo, se han observado pérdidas de más del 50% de caroteno, en alfalfa empacada tras un proceso de henificación realizado durante los meses de Agosto y Septiembre. No obstante, esto mismo no ocurre en la alfalfa henificada y empacada durante los meses invernales, y en buenas condiciones las pérdidas son mínimas.

La desecación artificial o deshidratación.

La razón de ser de la deshidratación de los forra-

jes, no ha sido otra que la de mantener el valor nutritivo de los mismos y conseguir cubrir los riesgos a los que se enfrentan los forrajes en un proceso natural. Asimismo, este proceso reduce la influencia de los sistemas de cultivo por parte del agricultor. Sin embargo, a pesar del gran éxito alcanzado por la desecación artificial en décadas pasadas, en las que el coste del fuel era comparativamente barato en relación a otras formas de energía, su gran esplendor se produjo en países con dificultades elevadas de henificación, como son Dinamarca, Inglaterra, Francia, y países nórdicos en general, en los que la producción de forrajes, en especial la alfalfa es muy importante.

Así pues, la deshidratación como fenómeno industrial puede considerarse como un proceso resultante del incremento de la productividad agraria, a costa de medios de producción de sectores foráneos al sector agrario (Gaspar González, 1979), sistemas que entran en un período de gran dificultad a consecuencia de la crisis energética.

Tal proceso de industrialización del secado de los forrajes, evita pérdidas mecánicas y alteraciones de los mecanismos fisiológicos propios de los vegetales durante el tiempo de secado natural. Así pues, este sistema mantiene la composición y digestibilidad de la proteína, no viéndose afectada por la temperatura elevada del proceso

de deshidratación (Del Pozo, 1977).

Las diferencias existentes entre la hierba fresca y el mismo producto desecado artificialmente, tal como indicamos anteriormente, son corroboradas por los resultados de Watson (1960), en los que se comprueba que el valor nutritivo del forraje se ve poco afectado (Tabla II), por los procesos industriales de desecación, siendo las pérdidas de materia seca no superiores al 10%. Por lo tanto, el valor nutritivo de la hierba desecada artificialmente depende de la composición del forraje fresco, y su valor nutritivo se ve limitado por los factores propios de la especie, crecimiento, tratamientos sufridos y manejo del agricultor en la siega y recolección.

TABLA II - Composición y digestibilidad de la hierba fresca y de la desecada artificialmente.

	<u>Hierba fresca</u>		<u>Hierba desecada</u>	
	<u>M.S.</u>	<u>Digest.</u>	<u>M.S.</u>	<u>Digest.</u>
	%	%	%	%
Grasa	3,08	52,3	3,38	67,8
Fibra	27,24	82,2	25,29	83,4
Proteína	14,79	74,0	15,02	72,8
Cenizas	9,23	-	10,08	-
M.E.L.N.	45,66	78,2	46,23	81,3
Mat. seca	100,00	74,4	100,00	77,4

(Watson, 1960)

También se puede observar en la tabla anterior, que mediante el proceso de desecación artificial no se producen pérdidas en cuanto a las materias extractivas libres de nitrógeno y que su digestibilidad se mantiene y si cabe, aumenta.

En cuanto a otros elementos nutricionales, como son carotenos, xantofilas, tocoferoles, etc., ingredientes de alto valor en las plantas jóvenes y verdes, el sistema de desecación artificial produce pérdidas que no exceden del 10%. Sin embargo, si los procesos de desecación se efectúan a altas temperaturas, la exposición del material al oxígeno debe ser de corta duración, con lo que los procesos de oxidación de sus componentes lipídicos se reducen y no producen pérdidas importantes en el sistema, resaltando así la importancia de la duración del proceso y de las condiciones de almacenamiento.

La conservación de forrajes de alfalfa, mediante procesos de fermentación natural, como son los ensilados, no han dado los resultados que normalmente se obtienen en forrajes de gramíneas; esto se debe a que en el caso de la alfalfa, esta no aporta los nutrientes esenciales en la proporción debida para la fermentación y los diversos cambios bioquímicos que debe sufrir la materia vegetal ensilada, y además la estructura vegetal de la alfalfa dificulta la compresión necesaria en todo ensilado.

El ensilado de alfalfa presenta, como problema más importante, su escaso contenido en hidratos de carbono, lo que dificulta el proceso fermentativo, y con ello el mantenimiento de un pH entre 3,8 y 4,2, límites considerados necesarios para un buen ensilado, según McDonald (1973). Otra causa que plantea dificultades, es la imposibilidad del dislacerado de la planta, con lo que se produce un escaso nivel de substrato líquido, dificultándose el desarrollo de los gérmenes necesarios para el proceso.

Un factor adicional que dificulta el ensilado de la alfalfa es la imposibilidad de aplastamiento correcto, con la consiguiente presencia de oxígeno en el interior de la masa de ensilado y con ello el mantenimiento de la respiración y pérdida de la materia energética por combustión de los hidratos de carbono.

Fraccionamiento vegetal

El fraccionamiento vegetal es un proceso basado en la extrusión o rotura del forraje recién cosechado, por medio de prensas helicoidales. En la primera fase del fraccionamiento se obtiene un líquido o jugo con un 10% de sustancia seca, y el resto de la materia vegetal fraccionada, con un porcentaje de humedad inferior al 65%.

La denominación de las diferentes fracciones de los

vegetales procesados por fraccionamiento, adoptada por la Comunidad Económica Europea, se presentó en el IX Symposium de la "British Grassland Society". Según dichos acuerdos, la parte grosera, compuesta por el vegetal troceado por extrusión (Pressed Crop) recibe la denominación de "Pulpa o Torta" y el líquido resultante "Jugo", el cual tras procesos de precipitación por temperatura o medios químicos proporciona la proteína foliar (Leaf Protein Concentrate) y solubles desproteinizados (Deproteinised Juice). En el presente trabajo se denomina C.P.F. (Concentrado de Proteína Foliar) al concentrado de proteína foliar, a fin de abreviar las reiteradas referencias a este producto.

En este sistema por tanto, se obtienen tres productos: pulpa o torta, solubles y concentrados de proteína. Estos productos pueden llevar la adjetivación de la materia prima o vegetal utilizado.

La composición en materia seca y proteína bruta de los diferentes productos, resultantes del fraccionamiento son detallados por Kohler (1971), Heath (1977), Rivadulla (1978), Dilly (1978), etc.

Descritos los diferentes productos que se obtienen de un fraccionamiento, pasamos a indicar el porcentaje de materia seca y proteína bruta (Tabla III) para cada uno

de los productos con relación al total del vegetal.

TABLA III - Productos que se obtienen del fraccionamiento vegetal

	M.S. %	P.B. %	M.S. %	P.B. (% de M.S.)
Vegetal	100	100	18	20
PULPA	80	65	21	16
JUGO (a)	20	35	10	35
CPF	9	26	45	58
SOLUBLES	11	9	5	16

(a) Se considera que el 20% del total de la materia seca vegetal es extractada como jugo.

(b) Según Heath (1977).

Como se puede observar en la Tabla III, cuando la capacidad de extracción del proceso es elevada, el porcentaje de materia seca en el jugo alcanza el 20%. La pulpa y la porción de solubles supone conjuntamente el 91% de materia seca y el 74% de la proteína bruta. Así, en términos porcentuales, podemos comprobar que el concentrado de proteína foliar es, según Heath (1977), una parte minoritaria en cuanto a producto obtenido y por tanto, pensar que el fraccionamiento es un proceso de obtención de pro-

tefnas foliares, es un concepto incorrecto, cuando esencialmente es simplemente un proceso de fraccionamiento vegetal.

Básicamente los procesos de fraccionamiento dan como resultado dos productos clásicos, jugo y pulpa, pero y según Jones (1977), estos procesos pueden alternar sus caminos mediante diferentes grados de extracción de la humedad.

El desecado se usa conjuntamente con el secado del vegetal (henificado) y el objetivo es suprimir al máximo el contenido de agua, obteniendo un jugo y a su vez un heno con pérdidas mínimas en materia seca, principalmente carbohidratos y proteína.

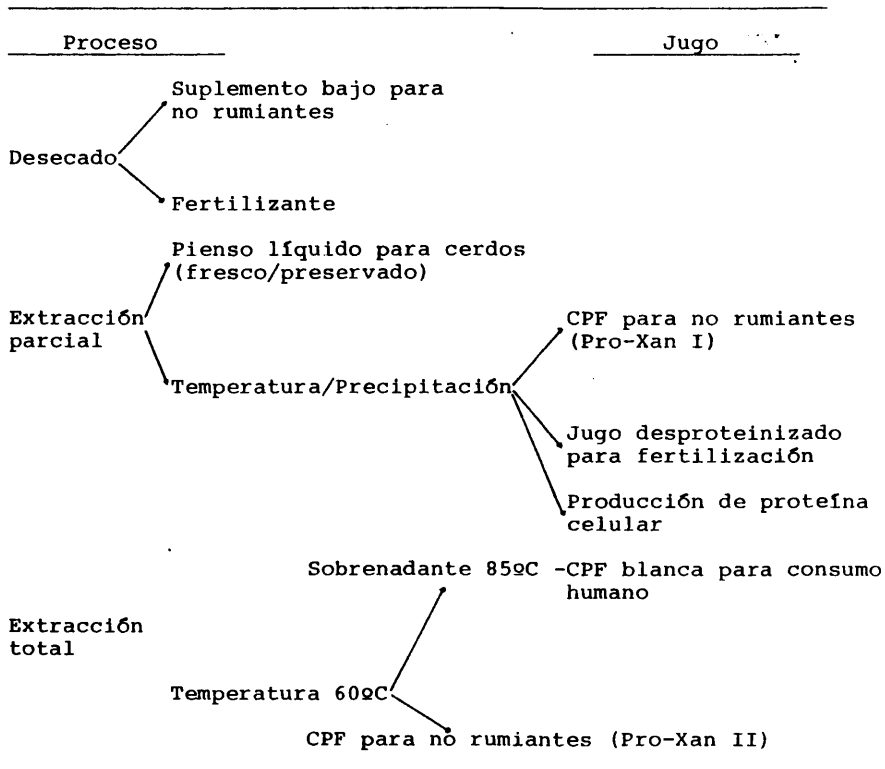
La extracción parcial tiene como objetivo proporcionar un producto con un contenido correcto de proteína para el ganado vacuno y rumiantes. El grado de extracción en este caso depende de la intensidad de uso de la pulpa y en cierto modo del coste del nitrógeno no proteico, tal como la urea. Así, y según Jones (1977), el primer producto en esta línea de utilización, en términos de valor, es la pulpa.

El tercer sistema, o Extracción Total o Exhaustiva, tiene como objetivo la máxima extracción de la proteína de la planta, y es la que presenta más interés para los

nutrólogos en alimentación humana. En este sistema el jugo tiene un valor económico superior a la pulpa.

Como puede observarse en la Tabla IV, los productos líquidos obtenidos por el fraccionamiento según el método de Extracción Parcial, pueden administrarse directamente o no, en forma completa, fresca o conservada.

TABLA IV - Procesos alternativos en el uso del jugo vegetal.



(Jones, 1977)

Cuando el jugo se conserva, su interés depende de la eficacia y coste del almacenamiento, aunque el contenido en materia seca del jugo sea bajo, entre 4 y 11%, y la preservación química presenta dificultades económicas (Jones, 1977). Otros autores, Shepperson y col. (1977), indican que la adición de agua en el momento de la extracción favorece la calidad del jugo, al aumentar el valor de la extracción de la proteína de la planta. Sin embargo, este último proceso no es aconsejable cuando el producto o jugo resultante se administra directamente a animales no rumiantes, ya que en principio se produce una dilución del contenido del líquido que posteriormente se administra como pienso.

Las ventajas y características del sistema de fraccionamiento han sido estudiadas por Pirie (1971). Los puntos en que basa este autor las posibilidades para la utilización del sistema de fraccionamiento son cinco, y en ellos describe las finalidades iniciales de los diferentes proyectos de investigación, a la vez que los efectos positivos que produce su utilización.

La historia de la productividad del sistema de fraccionamiento ha sido detallada en el informe de Pirie (1975), en el que señala y comenta los datos aportado por la Estación Experimental de Rothamsted, Inglaterra. Estos

datos indican que la producción ha alcanzado niveles de 2,0 Tm/Ha en 1968. Los diseños de las prensas utilizadas fueron realizados por Davys y Pirie (1965) y mejorados posteriormente por Pirie (1973).

Las especies y variedades vegetales, leguminosas y plantas con una alta relación hojas/tallo, usadas para la extracción de la proteína vegetal, han sido en su mayor parte fuente de material para la obtención de concentrados de proteína vegetal (Pirie, 1975). Si se investigan las variedades y especies vegetales no utilizadas hasta la actualidad en agricultura, como son las plantas tropicales y exóticas, las producciones pueden aumentar; sin embargo, las producciones anuales son imprevisibles y difíciles de valorar.

En este sentido resaltan los trabajos realizados por Arckoll y Festenstein (1971) en el Reino Unido, en donde sin regar obtuvieron 2 Tm de concentrado de proteína foliar, a partir de una sucesión de vegetales, a lo largo de un año. En Nueva Zelanda, Allison y Vrata (1973), produjeron a lo largo de un año una cantidad cercana a 1,9 Tm/Ha, utilizando tan solo alfalfa. En la India destacan los trabajos realizados en Aurangabad por Dew y col. (1974) y Deskmukh y col. (1974), quienes realizaron estudios comparativos entre la alfalfa y otras especies en cuanto a productividad; el vegetal que aportó mayor cantidad de pro-

tefna tras una año de producción fué el garbanzo (*Vigna unguiculata*), obteniéndose 895 Kg/Ha en solo 80 días; siendo más de 4 Tm las que se producirían si se consiguiera cultivar y mantener la productividad durante un año.

También han sido consideradas para la utilización en procesos de extracción las plantas acuáticas, pero podemos generalizar según lo expuesto por Boyd (1971), que estas plantas tienen un crecimiento abundante, pero los conocimientos sobre su capacidad y valor nutritivo son escasos.

Son de destacar las buenas producciones de proteína que han sido detectadas en hojas de subproductos de cultivos tradicionales como por ejemplo, legumbres (*Phaseolus spp* y *Vicia faba*), cáñamo (*Corchorus spp*), guisantes (*Pisum sativum*), patata (*Solanum tuberosum*), remolacha (*Beta vulgaris*), etc.

2.5. Composición química de la pulpa y solubles.

La composición y valoración de la pulpa en sus diferentes formas, ha sido estudiada reiteradamente (Jones, 1974; Hausseman, 1975; Alibes, 1978, etc). En los diferentes trabajos consultados se comprueba que una vez ex-

traído el jugo de los vegetales, la pulpa o torta contiene la mayor parte de la fibra original del vegetal y una proporción del nitrógeno, carbohidratos solubles y contenido mineral.

La valoración de la pulpa fresca, como materia prima para rumiantes ha sido poco estudiada, ya que la dificultad de mantenimiento de la materia experimental en condiciones homogéneas, durante períodos de tiempo largos, como son los propios de los ensayos de crecimiento de terneros, es difícil y costoso. Sin embargo, la valoración, tanto química como nutricional, de la pulpa ensilada o deshidratada, ha sido estudiada por diversos autores (Raymond y Harris, 1957; Oelshegel y col. 1969; Connell y Hauseman, 1978).

Sin embargo, algunos de los resultados obtenidos sobre la valoración nutritiva de la pulpa fresca (Jones, 1974; Hauseman, 1975), aportan datos suficientes para indicar y justificar su utilización frente al consumo de hierba fresca.

En el estudio preliminar efectuado por Jones (1975) se utilizaron terneras Frisonas de 450 Kgs. de peso vivo, con dos tratamientos, uno a base de hierba fresca y otro de pulpa fresca, todo ello procedente de una mezcla de Perineal/Ryegrass italiano; la pulpa se prensaba bi-semanalmente. En este ensayo se pudo comprobar un consumo superior de materia seca diaria en el caso de la pulpa, frente a la hierba fresca.

En un ensayo posterior (Hauseman y col., 1975) se amplió el nivel de estudio; se utilizaron terneros Aberdeen Angus x Frison, sobre tres sistemas de alimentación: hierba fresca, pulpa fresca y pastoreo en parque. La hierba se cortaba diariamente y se transformaba a su vez en pulpa. La prueba se realizó entre Mayo y Octubre, con pesos vivos de 285 a 390 Kgs. Los datos de este ensayo indican que los crecimientos diarios de los terneros que consumían pulpa, eran superiores a los demás tratamientos.

Los datos resultantes del anterior ensayo son contrarios a lo esperado, ya que la pulpa contiene un 30% de nutrientes inferior a la hierba fresca original. Sin embargo, los resultados parecen deberse a la existencia de un aumento de la eficiencia de la transformación, por parte de los microorganismos del rumen sobre el contenido fibroso. La explicación inicial del incremento de la digestión del contenido fibroso, se debe a la mayor posibilidad de contacto que se produce entre un producto más concentrado, como es la pulpa y la población microbiana del rumen. En este mismo sentido, Greengalgh y Reid (1973) indicaron que el deterioro potencial producido sobre el contenido de nutrientes de la hierba al sufrir la extracción, era compensada por los efectos beneficiosos de la trituration. En conclusión, se puede considerar que la naturaleza de la fibra cambia por la presión ejercida en el proceso de fraccionamiento.

En el mismo ensayo (Hauseman y col., 1975), se exponen los datos de ganancia de peso vivo, consumo de pienso e índices de conversión para cada dieta (hierba fresca y pulpa). Estos parámetros se estudiaron en tres periodos de tiempo (43 días) entre Mayo y Octubre, para así determinar la influencia del efecto estacional. De los datos presentados es destacable el hecho de que durante los meses primaverales, en los que la vegetación está en fase de crecimiento, no se presentan diferencias entre los crecimientos diarios de peso e índices de conversión. Ahora bien, en el último período del ensayo se produce un efecto inverso a los periodos iniciales, siendo las diferencias favorables a la pulpa fresca en incremento de peso e índices de conversión.

La causa de la inversión de los datos, es consecuencia de la pérdida de valor nutritivo de la hierba fresca en el periodo final. Sin embargo, esto no es totalmente correcto, ya que en esta fase las necesidades de los terneros son superiores, y con ello se adiciona una nueva variable.

Todos los conceptos expresados anteriormente y valorados por Hauseman y col. (1975), están en concordancia con los resultados de Greenhalgh y col. (1975), quienes comparan dos formas de pastoreo en parcelas y también se ven apoyados por los trabajos de valoración

energética de Pullar (1958) y Blaxter y col. (1971), que demostraron que el valor energético para terneros en crecimiento de la hierba conservada era inferior al de la hierba joven.

Hauseman y col. (1975) señalan que la digestibilidad de la materia seca de la hierba fresca y de la pulpa es de 72,9 y 71% respectivamente; la materia orgánica tiene una digestibilidad de 73,8 y 71,8% para cada tipo de dieta respectivamente. Autores como Raymond y Harris (1967) obtienen reducciones en la digestibilidad de materia seca y materia orgánica, entre el 6,4 y 5,7%; asimismo, Greenhalgh y Reid (1975) observaron reducciones del 0,8% de la digestibilidad de la materia seca. En este mismo sentido, cabe destacar el trabajo realizado en el Centro Regional de Investigaciones y Desarrollo Agrario-03 (CRIDA) de Zaragoza por Alibes y col. (1979) sobre la digestibilidad de la materia orgánica y materia nitrogenada y su valoración en unidades forrajeras.

Las valoraciones aportadas por Alibes y col., se encuentran por debajo de los resultados de los trabajos realizados por los autores reseñados anteriormente, asignándole a la pulpa ensilada un valor de 0,40 UF/kg. a 0,50 UF/Kg. de materia seca.

La pulpa ensilada, según Hauseman y col. (1975), permite al ganado ovino obtener buenos niveles de consumo

de materia seca, siendo estos valores de 73,6 a 71,4 gr./kg. $W^{0,73}$. La digestibilidad de la materia seca, correspondiente a los datos de consumo eran de 75,7 a 71,4%, siendo estos valores semejantes a los obtenidos para la digestibilidad de la materia seca de la hierba fresca.

En el ensayo de Alibes y col. (1979), el consumo de pulpa ensilada por los corderos, se encuentra entre 46,6 a 50,0 gr. de materia seca/kg. $W^{0,75}$, niveles realmente bajos, comparándolos con los de pulpa ensilada aportados por Hauseman y col. (1975). Esta diferencia puede deberse a diferencias en los sistemas de procesamiento y ensilado. También podemos indicar que los resultados de consumo de Alibes y col. (1979) son inferiores a los que tradicionalmente se obtienen por el ensilado de alfalfa, que suelen hallarse entre 60 y 70 gr./kg. $W^{0,75}$.

Composición y valor de los solubles de extracción.

Al producto resultante de la separación de la Pulpa y del Concentrado Proteico Foliar de la alfalfa y otros forrajes, se le denomina Solubles de Extracción y se compone de aminoácidos, azúcares, minerales, vitaminas y otros compuestos solubles.

La composición química de los solubles fué presentada por Chessemán (1977) en el Symposium Nº 9 de la

de la alfalfa. En este trabajo se determina que el aumento de la productividad del sistema, al adicionar igual contenido de solubles y pulpa en una reextracción se produce un incremento de la productividad del 55.6%.

En otro sentido, la adición de solubles de alfalfa, mezclados con alfalfa verde y alfalfa troceada, aumenta la producción de proteína foliar por simple trituración en un 23 y 14% respectivamente. El incremento de la producción de proteína foliar es directamente proporcional al incremento de la adición del contenido en solubles; así como la depresión de la materia seca del pienso es la resultante de la adición de solubles.

También Edwards y col. (1978) señalan que mediante la adición de solubles a la alfalfa verde, se obtienen altos niveles de productividad en concentrado proteico foliar (de 14,9 a 21,4%).

Por todo lo expuesto, la idea inicial de Heath (1977) sobre la dificultad de utilización, por falta de conocimientos sobre los solubles, tiene hoy otros caminos, gracias a los trabajos realizados por Edwards y col. (1978), apareciendo claras posibilidades de utilización y rentabilidad.

2.6. Composición y valor nutritivo del jugo .

Sociedad Inglesa de Pastos. En su trabajo, este autor expone la valoración tanto para el caso de la alfalfa como del ryegrass. Sin embargo, la utilización de los solubles de extracción en condiciones de rentabilidad, no ha sido aún demostrada de forma concluyente (Heath, 1977).

Al estudiar los datos aportados por Chessemán (1977) se puede observar (Tabla V) que la fracción de carbohidratos solubles aumenta, al igual que el contenido en sodio. Otros elementos, como el hierro, descienden al incorporarse este mineral a la proteína coagulada. La fracción nitrogenada contiene aminoácidos esenciales y según Chessemán estos se encuentran libres en una proporción elevada. El aminoácido presente en mayor cantidad en forma libre en el jugo es la Metionina.

TABLA V - Composición de los solubles o jugo desproteínizado.

	Alfalfa		Ryegrass	
	Media	Extremos	Media	Extremos
Materia seca	5,7	3,8 - 8,0	5,1	3,6 - 7,8
Nit. total	2,5	2,0 - 2,9	2,5	1,2 - 3,1
N.N.P.	2,0	1,6 - 2,3	2,3	0,9 - 3,0
Energ.Kj/gr.	15,2	14,3 -16,1	12,8	10,3 -15,2
M.E.L.N.	31,6	16,5 -39,8	36,4	31,1 -40,9
Calcio	3,5	2,6 - 4,2	2,2	1,4 - 2,8
Magnesio	0,5	0,4 - 1,4	0,4	0,2 - 0,6
Sodio	0,6	0,2 - 1,4	1,5	0,7 - 3,1
Potasio	6,2	4,2 - 8,0	7,1	0,4 -12,1
Fósforo	0,4	0,2 - 0,6	0,4	0,2 - 0,7
	<u>ppm</u>		<u>ppm</u>	
Hierro	56	33 - 85	59	48 - 83
Manganeso	80	59 - 103	121	105 - 165
Zinc	75	50 - 102	90	68 - 118

(Según Chessemán, 1977).

En el mismo sentido de los valores de la composición de los solubles, indicados anteriormente, Heath (1977)

observa que el contenido en materia seca y proteína bruta presente en los solubles, es de 11 y 9% respectivamente. En cuanto a la composición porcentual, los solubles se hallan constituidos por un 5% de materia seca, y esta, a su vez, por un 16% de proteína bruta (veáse Tabla III).

En España, los solubles o "fracción acuosa" constituyen, según Rivadulla y col. (1978) el 12,5% del total de la materia seca inicial del forraje, y su contenido en materia seca es de un 5,2%, con una proporción del 16,3% de proteína bruta de la materia seca.

Según los sistemas industriales actualmente en curso, los solubles toman diferentes caminos de utilización. En el sistema actualmente utilizado en España, estos se usan como fertilizantes de cultivos (Rivadulla y col., 1978). En Hungría, el sistema VEPEX utiliza los solubles como sustrato para la producción de microorganismos unicelulares, incorporándose el producto resultante al concentrado de proteínas foliares. Kohler y col. (1975) autores del sistema de procesado americano PRO-XAN, utilizan los solubles o fracción acuosa, mediante reciclado por adición a la pulpa.

Edwards y col. (1978) señalan que el uso de los solubles de alfalfa, reciclados sobre la pulpa de extracción, aumenta la productividad del concentrado de proteína foliar

El proceso de trituración y extracción vegetal o fraccionamiento produce un jugo. El líquido o jugo resultante contiene los componentes solubles de las hojas, cloroplastos y otras partes del vegetal. Posteriormente se puede deshidratar y conservar o bien utilizar en forma líquida. A este tipo de sustancias es a las que se refiere Kohler (1973) como "Whole LPC Juice", ya que contiene todas las sales, azúcares, nitrógeno no proteico, así como todos los componentes potencialmente perjudiciales, alcaloides, glucósidos y saponinas propias de la planta fraccionada.

En el proceso de fraccionamiento, el jugo contiene el 20% del total de la materia seca existente en el vegetal procesado (Heath, 1977). La proteína bruta presente en el jugo, con respecto al total de la materia vegetal, alcanza valores del 30 al 35%, según Kohler (1973) y Heath (1977), niveles de proteína semejantes a los indicados por Rivadulla y col. (1978).

El jugo, según Heath (1977), contiene un 10% de materia seca y esta un 35% de proteína bruta. Estos datos son ampliados y estudiados de forma exhaustiva en el trabajo de Chessemán (1977). Este autor nos presenta una descripción completa de los diferentes componentes que constituyen los jugos de alfalfa y ryegrass. Por el interés que

tienen las valoraciones realizadas por Chesseman, (1977) en el National Institute for Research in Dairying, pasamos a detallar la tabla de composición (Tabla VI).

TABLA VI - Composición del jugo fresco preparado con el sistema NIRD

	Alfalfa		Ryegrass	
	Media	Amplitud	Media	Amplitud
Mat. Seca, %	10,1	7,2 - 14,1	9,7	8,5 - 12,1
Prot.Bruta "	36,1	30,0 - 41,9	32,6	23,7 - 45,6
Nit. Total, "	5,8	4,8 - 6,7	5,2	3,8 - 7,3
Nit.no Prot"	1,8	1,2 - 2,2	1,4	0,7 - 2,3
Energ. Kj/gr.	19,4	18,7 - 19,9	18,3	18,3 - 20,9
M.E.L.N., %	15,1	10,0 - 20,2	30,1	13,7 - 46,7
Calcio, "	2,6	2,2 - 3,1	1,8	1,2 - 2,4
Magnesio, "	0,3	0,2 - 0,3	0,3	0,1 - 0,3
Sodio, "	0,2	0,1 - 0,3	0,4	0,3 - 0,6
Potasio, "	4,8	2,7 - 7,0	4,8	2,4 - 6,7
Fósforo, "	0,5	0,4 - 0,6	0,5	0,3 - 0,7
Hierro, ppm.	290,0	240,0 - 330,0	320,0	300,0 - 350,0
Cobre, "	12,8	9,5 - 15,8	13,4	9,3 - 20,4
Manganeso, "	92,8	68,3 - 113,9	145,9	112,5 - 165,6
Zinc, "	64,6	54,2 - 77,1	68,1	60,5 - 76,8

Chesseman, 1977

Como es evidente en los estudios de Cheseman (1977) el producto carece de fibra, si el proceso se realiza en perfectas condiciones.

La diferencia más notable entre los dos líquidos, es el mayor contenido en carbohidratos solubles por parte del Ryegrass, efecto imputable a la amplitud de variación de los resultados procedentes del líquido Ryegrass, tanto en materia seca como en carbohidratos solubles, superior al líquido de la alfalfa.

El contenido, tanto de cenizas como de grasa, de la materia seca, es similar para ambos jugos, siendo del orden del 14 a 16% en cenizas y de 2 a 3% en extracto etéreo.

Al realizarse los análisis de los distintos jugos en diferentes periodos del año, es preciso considerar que los diferentes valores pueden deberse a efectos estacionales, condiciones de clima, aplicación de fertilizantes, etc. Así Cheseman (1977) en el mismo trabajo comentado anteriormente, hace un análisis de los efectos estacionales sobre diferentes parámetros, tanto para la alfalfa como para el Ryegrass. Desde un punto de vista de diferencias evidentes, solo se debe indicar que el efecto estacional se hace patente en el descenso del contenido de extracto libre de nitrógeno para el Ryegrass según avanza la estación. También se determinan diferencias en el

TABLA VII - Variación estacional del contenido en aminoácidos del jugo de alfalfa.

	<u>Junio</u>	<u>Julio</u>	<u>Agosto</u>	<u>Septiembre</u>
Acido aspártico, %	20,8	11,0	11,5	12,4
Treonina, "	4,3	4,4	4,5	4,5
Serina, "	4,0	4,1	4,3	3,9
Glutamina, "	9,7	10,1	10,1	10,3
Prolina, "	6,8	7,3	4,9	4,3
Glicocola, "	4,6	4,8	5,0	4,7
Alalina, "	5,3	5,5	5,7	5,6
Cistina † Cisteina	1,4	1,4	1,4	1,5
Valina "	4,8	5,2	5,4	5,2
Metionina, "	1,8	1,7	1,9	1,9
Isoleucina, "	3,9	4,2	4,3	4,2
Leucina, "	7,2	8,1	7,8	7,8
Tirosina, "	3,8	3,6	3,8	4,0
Fenilalanina "	4,8	4,5	4,7	5,4
Histidina, "	2,0	2,1	2,1	2,2
Lisina, "	4,9	5,8	5,9	6,3
Arginina, "	5,1	5,3	5,4	5,5
Amoniaco, "	1,1	1,1	1,1	1,1
Nitrógeno asimilable	88,0	81,0	81,0	84,0
Nitrógeno (% M.S.)	5,4	5,1	6,0	6,9

Chesseman, 1977

Los componentes que no se ven influidos por la estacionalidad son el nitrógeno total, nitrógeno no proteico, contenido energético, sodio y magnesio.

Tekale y Joshi (1977) realizaron un estudio sobre la influencia del sistema de procesado de la alfalfa en los pigmentos carotinoides: xantofilas y carotenos. En este sentido, consideran que una pausa de más de 8 horas entre el corte y el procesado produce unas pérdidas entre 14 y 19% en temperatura ambiental baja (invierno) y el 31 a 46% en temperaturas extremas (verano). También señalan que las pérdidas de carotenos y xantofilas se reducen substancialmente cuando durante la vegetación se adiciona una solución de amoníaco y el jugo se almacena a pH alcalino.

2.7 Composición de la Proteína Foliar.

El concepto de proteína foliar fué definido en el Symposium de la Sociedad Inglesa de Pastos como la porción de materia seca que se obtiene del jugo por precipitación ácida o mediante coagulación por temperatura.

Volviendo al trabajo de Heath (1977), el contenido de proteína foliar constituye el 9% de la materia seca existente en el vegetal y el 26% de la proteína bruta.

En este sentido, Jones (1977) también indica que mediante este proceso se extrae el 26% de la proteína bruta.

La composición química del concentrado de proteína foliar ha sido descrita en varios trabajos, destacando entre ellos los realizados por Gerloff (1965), Kuzmicky y Kohler (1972), Galopini y col. (1978), etc. Entre los diferentes autores hay diferencias ligeras, pero todas ellas se deben al sistema industrial utilizado o bien a las condiciones de manejo de la explotación vegetal (Tabla VIII).

TABLA VIII - Composición química del Concentrado de Proteína Foliar

	<u>Gerloff</u>	<u>Kuzmicky y col.</u>	<u>Galopini y col.</u>
	<u>1965</u>	<u>1972</u>	<u>1978</u>
Humedad, %	12,0	11,0	-
Proteína bruta, %	58,0	38,8	56,2
Fibra, %	-	2,3	6,2
Extracto etéreo, %	4,5	6,2	10,8
Cenizas, %	6,0	19,2	13,2
Calcio, %	1,5	2,3	-
Fósforo, %	0,27	0,4	-
Sodio, %	0,20	0,3	-

La valoración de Galopini y col. (1978) se realizó sobre CPF obtenido en un proceso básicamente distinto a los demás sistemas. En este proceso, la coagulación de la materia seca existente en el jugo, se realiza mediante la adición de moléculas polielectrolíticas de alto peso molecular, las cuales producen la sedimentación de las partículas sólidas existentes en el líquido; a este sistema se le denomina "Poly-Protein".

La valoración del contenido en aminoácidos ha sido realizada por Gerloff (1969), FAO (1970), Byers (1971), Chessemán (1977), y en forma amplia por Kuzmicky y Kohler (1977), sobre diferentes variedades del proceso PRO-XAN (véase Tabla IX).

TABLA IX - Composición aminoacídica de diferentes concentrados de proteína foliar, aportados por diferentes autores (Alfalfa, Med. sativa, L).

	I	II	III	IV	V
Lisina	6,29	6,47	6,85	5,54	5,92
Fenilalanina	6,00	5,40	6,14	5,64	5,94
Metionina	2,10	1,69	1,97	2,03	2,30
Treonina	5,27	5,10	5,12	5,02	5,10
Leucina	9,79	8,69	9,57	8,86	9,29
Isoleucina	5,29	5,10	5,29	5,25	5,60
Valina	6,29	6,26	6,37	6,57	6,33
Triptófano	1,60	-	-	-	-
Arginina	6,50	6,28	6,43	5,64	6,45
Histidina	2,20	2,44	2,33	2,26	2,32
Tirosina	4,20	4,08	4,46	4,17	4,75
Cistina	0,70	1,35	0,63	1,10	1,18
Proteína bruta	58,0	56,8	-	38,8	62,8

Resultados expresados en gramos de aminoácidos por 100 gramos de proteína.

I : Gerloff, 1965

II : F.A.O., 1970

III : Byers, 1971

IV : Kuzmicky, 1972

V : Kuzmicky, 1977. PRO-XAN, concentrado de proteína foliar, coagulado, prensado y secado.

La composición de la fracción hidrocarbonada, o bien sustancias extractivas libres de nitrógeno, ha sido poco estudiada por los diferentes autores, al no ser un componente esencial en el concentrado de proteína foliar, y por tanto, tener una repercusión escasa en su valoración energética. En este sentido Morris (1977) señala el valor energético del CPF para aves, usando la fórmula de Carpenter y Clerg (1965).

Un componente de gran valor, existente en los concentrados de proteína foliar, lo constituyen las xantofilas (Kuzmicky y col., 1977b). El concentrado de proteína foliar de alfalfa, obtenido por método PRO-XAN, puede alcanzar un gramo de contenido xantofílico por kilogramo de proteína producida, con un elevado porcentaje de dihidroxipigmentos (luteína). En resumen, mediante el proceso PRO-XAN americano se obtiene un producto constituido por alfalfa con una concentración en xantofilas tres veces superior a una buena alfalfa deshidratada.

2.8. Principios tóxicos

Además de los principios nutritivos conocidos, las leguminosas contienen sustancias capaces de producir efectos depresivos y tóxicos en los animales que las consumen. En el caso especial de la alfalfa estas sustancias actúan

como inhibidores del crecimiento, en particular en los animales monogástricos.

Las sustancias consideradas como responsables en el caso de la alfalfa han sido definidas como pertenecientes a los grupos siguientes: Inhibidoras de las Proteasas, Fitoheмоaglutininas, Saponinas, y Taninos.

La acción de cada una de estas sustancias sobre el fisiologismo animal es muy variada, confundiéndose los efectos producidos, ya que normalmente el efecto negativo se produce simultáneamente por diferentes sustancias.

Los cambios producidos o provocados por estos factores sobre el fisiologismo animal, son los siguientes:

- a) Alteración de la composición de los principios inmediatos.
- b) Modificación del equilibrio proteico, con inhibición de la síntesis proteica e incremento de las sustancias nitrogenadas.
- c) Variación de colesterol en la sangre.
- d) Falta de coagulación sanguínea.

2.8.1. Inhibidores de las proteasas.

Los componentes definidos como inhibidores de las proteasas son sustancias capaces de inhibir la actividad de ciertos enzimas; su importancia radica en el papel que desarrollan sobre el valor nutritivo de las proteínas vegetales.

La presencia de inhibidores de las proteasas en la alfalfa ha sido estudiada por Borchers y col. (1947), Kendal y col. (1951), Beauchene y Mitchell (1957), Ramirez y Mitchell (1960), Mooijman (1965), etc.

Ramirez y Mitchell (1960) describieron la purificación parcial de un inhibidor tróptico procedente de la alfalfa, el cual, según estos autores, podía ser un polipéptido o una proteína no coagulada. Este inhibidor era solo inactivado lentamente por calor. La alta estabilidad frente a la temperatura fue confirmada por el hecho de que los extractos comerciales de alfalfa deshidratada mantienen su potencial inhibidor para la tripsina (Beauchene y Mitchell, 1957).

En posteriores estudios realizados por Mooijman (1965), se considera que el inhibidor tróptico de la alfalfa es un péptido-saponina o un complejo ácido amino-saponina. En relación con lo indicado por el autor anterior,

Ishaaya y Mirk (1965) señalaron que las saponinas de la soja son conocidas como inhibidores efectivos de la tripsina.

2.8.2. Factores hemoaglutinantes en la alfalfa.

Los extractos de algunas plantas tienen propiedades aglutinantes sobre las células rojas de la sangre. Este efecto es producido por proteínas denominadas Fito-hemoglobinas o Lecitinas. Estas están presentes en los granos y pueden extraerse tanto por soluciones acuosas como por soluciones salinas. También pueden estar presentes en las hojas, corteza, raíces, tubérculos, latex, etc.

El contenido aglutinante de las plantas ha sido demostrado en algunos grupos botánicos, incluyendo tanto a mono como a dicotiledones; sin embargo, Tobiska (1964) indicó que su presencia es mayor en las leguminosas.

El factor hemoaglutinante existente en la alfalfa para pollos fué estudiado por Clary y col. (1969), aunque no lo definieron de forma concreta.

2.8.3. Saponinas

Las saponinas son glicósidos, que se encuentran

en una gran variedad de plantas. Sus características fundamentales son las de tener un gusto amargo y poseer factores espumantes en soluciones acuosas y hemolización de las células rojas. Estas sustancias son muy tóxicas para los animales de sangre caliente; su toxicidad está en principio relacionada con su actividad hipotensora. A pesar de que las saponinas están constituidas por diferentes componentes químicos, estas tienen como característica común su capacidad de formación de espuma, de la cual toman el nombre de Saponinas.

El aislamiento de las saponinas se realiza mediante agua caliente o bien etanol, seguido todo ello por evaporación del extracto o por precipitación. Por hidrólisis completa de las saponinas se obtienen saponinas y azúcares (hexonas, pentosas, y ácidos sacáricos). Desde un punto de vista de identificación, las saponinas han sido difíciles de caracterizar, siendo todo ello consecuencia de su elevado peso molecular.

Las saponinas se dividen por su naturaleza química en dos grupos: Esteroides (C_{27}) y Triterpenoides (C_{30}). Los principales estudios sobre las saponinas se deben a Boiteau y col. (1964), Shoppee (1964), Tschesche y Wulff (1964), etc.

Las saponinas interesan en general por tener una

actividad hemolítica y en ciertos casos, por sus propiedades terapéuticas. En alimentos o piensos para animales las saponinas han sido poco estudiadas y no se ha profundizado en sus posibles efectos. Sin embargo, el desarrollo de técnicas cromatográficas en las últimas décadas, ha permitido la aparición de técnicas por las que se pueden separar las saponinas, y así establecer aproximadamente sus características químicas y biológicas y la caracterización total de los productos no convenientes desde un punto de vista amplio.

2.8.3.1. Composición química y estructura de las saponinas

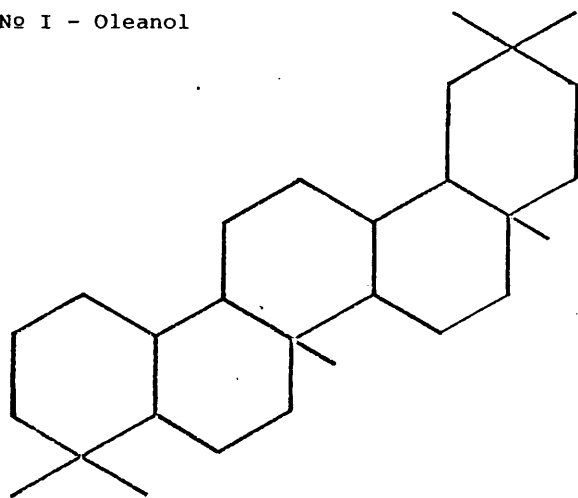
Aunque la mayoría de las saponinas han sido separadas en forma pura, es bien conocido el hecho de que la mayoría de ciertas plantas contienen diferentes variedades de saponinas (Coulson, 1958). En las saponinas de alfalfa (Pedersen y col., 1966), la mezcla es de más de cinco tipos diferentes. Las saponinas de la soja han sido separadas en cinco fracciones, las cuales difieren en sus saponinas y carbohidratos (Birk y col., 1963; Cestetner y col., 1966).

Las saponinas, tanto del grupo esteroide como triterpenoide, cuando son sometidas a la acción de ácidos y bases fuertes, así como de enzimas, sufren una hidrólisis

desdoblándose en un grupo aglicon más carbohidratos, compuestos a su vez por varios azúcares y ácidos urónicos. Los azúcares son de cadena recta, con un extremo terminal unido a un radical hidroxilo. Estas observaciones fueron confirmadas por Krider y col. (1955) para la sarsaponina.

Los aglicones de las saponinas triterpenoides están compuestos por treinta o más carbonos. La mayoría de estos son triterpenoides pentacíclicos derivados del grupo oleano (Steiner y Holtzem, 1955). La supervisión de la composición y estructura de la mayoría de las saponinas triterpenoides se da en los trabajos de Boiteau y col. (1964).

FIGURA Nº I - Oleanol



(Liener, 1969)

Los carbohidratos de las saponinas triterpenoides son generalmente hexosas, principalmente D-glucosa y D-galactosa; pentosas, D y L arabinosas y D-xilosa; metilpentosanas, L-raminosa y D-galacturónico. Los triterpenoides libres son extremadamente lipofílicos, pero las saponinas triterpenoides son hidrofílicas. A pesar de que las fórmulas empíricas son conocidas, solo se conocen algunas estructuras. Entre las saponinas conocidas estructuralmente están las de la remolacha, (Jeger, 1959; Wagner y Sternkoff, 1958), castañas (Tschesche y col., 1963) y la Gipsosida, saponina con nueve monosacáridos en los azúcares medios (Kochetkov y col., 1963; Kochetkov y Khorlin, 1966).

Descripción de diferentes saponinas triterpenoides.

Los aglicones de las saponinas esteroides están compuestos por 27 átomos de carbono (Simpson y Jacob, 1935); en este aspecto se parecen a los esteroides de origen animal. Pero de estos se diferencian en la composición del tamaño de la cadena. Los azúcares diferentes y mayoritarios son la glucosa, galactosa, raminosa, xilosa y arabinosa (Shepper, 1964).

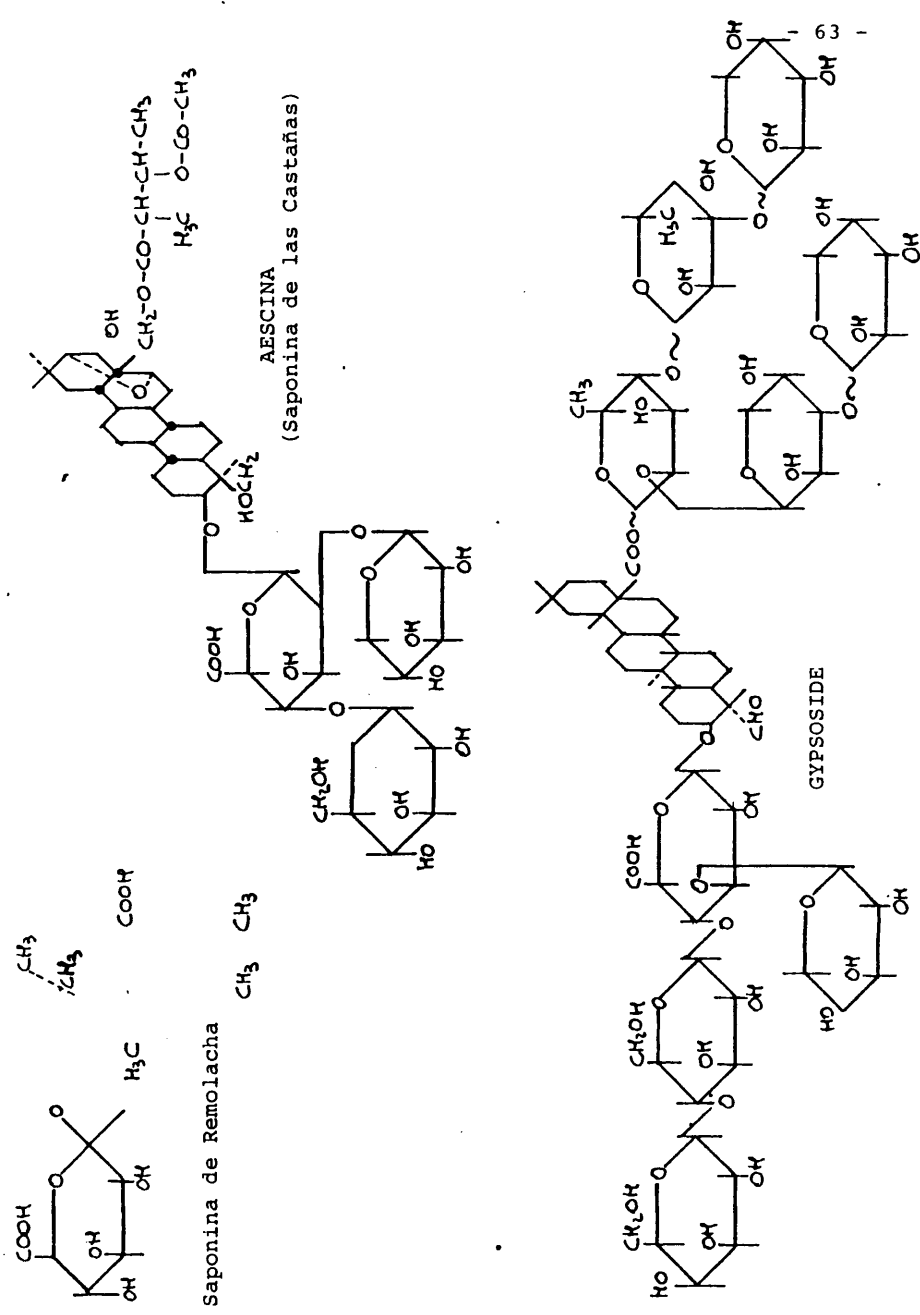


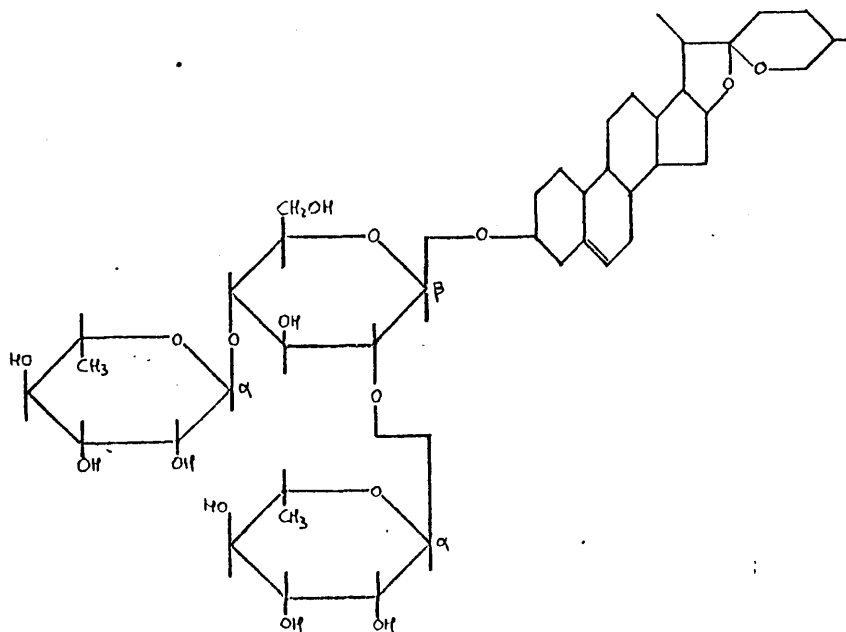
FIGURA No II

Descripción de diferentes saponinas triterpenoides

Liener, 1969

Tan solo en un reducido número de saponinas esteroideas ha sido posible caracterizar y definir su estructura. Entre estas, las mejor definidas pertenecen al grupo de la Dioscina (Kowesaki y Yamarechi, 1962).

FIGURA Nº III - Fórmula estructural de las saponinas diosina esteroide



(Liener, 1969)

2.8.3.2. Características generales, propiedades y usos de las saponinas.

Las saponinas exhiben ciertas propiedades, las cuales se usan para su identificación y caracterización. Entre las características más tradicionales se cuentan el sabor amargo, formaciones de espuma en soluciones acuosas, hemólisis de los glóbulos rojos, toxicidad alta para peces y anfibios, y también destaca como propiedad, la formación de compuestos con moléculas de colesterol y otros esteroides. Al existir una gran variedad de saponinas, así como una variabilidad de procedencia, las saponinas no necesariamente producen los mismos efectos.

En este sentido, como se indica en otros capítulos, las saponinas de la soja no forman complejos con el colesterol. Asimismo, Gesterner y col. (1966), indican la existencia de diferencias entre saponinas procedentes de la misma planta, como sucede en el caso de la soja.

Distribución de las saponinas

Las saponinas se encuentran distribuidas ampliamente en diversas plantas y han sido identificadas en más de 400 especies y entre más de 80 familias. Algunas de las plantas que contienen saponinas son componentes de la dieta humana, y otras son alimentos tradicionales para el

ganado.

Entre las plantas más comunes con saponinas, se encuentran las espinacas, remolacha, espárrago, azafrán, castañas, alfalfa y soja; todas estas plantas han sido identificadas como portadoras de saponinas, en el estudio realizado por George (1965). También se encuentran en tréboles y otras plantas forrajeras (Walter, 1961). Es asimismo destacable la presencia de saponinas en plantas ornamentales (Takahaski y col., 1963) y en las hojas del té (Hashzume y Sarako, 1969).

En cuanto a la localización de las saponinas en las distintas partes de la planta, así como la valoración del contenido de estas sustancias durante la vegetación, temperatura ambiental y estación, destacan los trabajos realizados por Hein (1959) y Drodz (1962). En este sentido, podemos indicar que el contenido de las saponinas puede variar, como sucede en los órganos de Saponaria Officinales L y Palemonium Coeruleum L., las cuales disminuyen su contenido de saponinas en las raíces cuando se encuentran en la floración, así como el desarrollo del fruto, y acumulan estas sustancias en los órganos germinativos.

Las saponinas tienen la característica de formar complejos con el colesterol, y en este sentido se realizaron estudios para determinar y posibilitar la reducción del colesterol en el hígado y suero sanguíneo (Newman y

col., 1958; Griminger y Fisher, 1958). En el mismo sentido, otros trabajos han sido dedicados al estudio del tratamiento de la arteriosclerosis mediante la saponina Aescina de las castañas, la cual inhibe y reduce el desarrollo de la arteriosclerosis en conejos y ratas (Mikhailava y col., 1965).

Utilización de las saponinas.

Las saponinas se utilizan como inhibidores germinativos (Nord y Van Atta, 1960). Un descenso en la germinación de los granos de algodón causada por las saponinas de la alfalfa fué determinada por Mishustin y Naumova (1955) y por Pedersen (1966).

En la actualidad las saponinas se utilizan de forma amplia en bebidas suaves, cervezas, confitería, champús, jabones y sustancias apagafuegos; todo ello basado en su posibilidad de formar jabones en soluciones acuosas y suspensiones permanentes con aceites y pólvora.

Tanto por sus propiedades como por sus efectos terapéuticos, estas sustancias han sido bien utilizadas en las preparaciones farmacéuticas. En este último aspecto cabe destacar su empleo como sustancias antihemorroidales (Rocher, 1965) y como inmunitarias (Richou y col., 1965).

En este sentido, las saponinas presentes en los

tubérculos de las especies Dioscorea D. spiculiflora, constituyen la mejor fuente de saponinas usadas para la formación de progesterona, cortisona y otros productos esteroides (Preston y col., 1964).

2.8.3.3. Saponinas de la alfalfa

Durante varios años ha sido interesante valorar y determinar la relación de saponinas en la alfalfa y considerar sus posibles efectos nutricionales y fisiológicos.

Los efectos depresores del crecimiento y la depresión de la producción de huevos en gallinas, factores espumantes, inhibición respiratoria y retraso de la germinación del grano son algunos de los fenómenos que pueden atribuirse a las saponinas de la alfalfa. Por todo esto, desde que han sido detectados y se conocen sus efectos sobre la eficiencia en los pollos, ganado y otros mamíferos, se valora en gran manera el escaso contenido en saponinas en las distintas plantas.

Las variedades de alfalfa tienen diferentes cantidades de saponinas y por ello valores biológicos diferentes. La diferencia en la actividad biológica de las saponinas en las distintas variedades puede presumiblemente ser causada por diferencias relativas de la canti-

dad de saponinas o por la presencia de diferentes saponinas.

El contenido en saponinas parece generalmente controlado por selección (Hanson y col., 1963; Pedersen y col., 1966). Así, en la actualidad el conocimiento del contenido en saponinas de las variedades de alfalfa ayuda a mejorar el cultivo de los alfalfares, y a su vez, a aumentar la productividad de la alfalfa y con ello aumentar la posibilidad de utilización en raciones para ganado en general.

Localización de las saponinas en la planta.

Las saponinas se hallan presentes en las hojas, raíces y tallos de la alfalfa (Cole y col., 1945; Pedersen y Taylor, 1962; Morris y col., 1961; Morris y Hussey, 1965). Las investigaciones preliminares que se desarrollaron sobre la alfalfa demostraron su potencialidad de concentración en las partes más altas y en las raíces. El primer estudio sobre el contenido de saponinas de alfalfa, en relación con su localización, variedad, corte y otro tipo de variables fué realizado en diferentes variedades, como son la Ranges, Buffalo, Lahontan, Vernal y Du Puits, en ocho lugares de los Estados Unidos, por Hanson y Kholer (1961), Hanson y col. (1963), etc. El contenido de saponinas se

estableció entre 2 y 3%, siendo la variedad "Lohanton" la que contenía menor nivel y la "Du Puits" la que tenía mayor cantidad. Una de las conclusiones que se obtenían en este trabajo era la gran variabilidad en el contenido de las saponinas y la facilidad de alteración por la forma de cultivo. El contenido de saponinas en el primer corte es inferior al del segundo y tercer corte, y está relacionado con el contenido de proteína, cenizas, grasa y nitrógeno libre. Sin embargo, la relación es negativa con el contenido en fibra. Bajo las mismas condiciones, Pedersen y Taylor (1962) indicaron que la media del contenido de saponinas en las hojas es más del doble que en el tallo y el contenido en saponinas declina con el envejecimiento de las plantas.

Se ha demostrado por aislamiento y cromatográfica en papel, que la mezcla de las saponinas contienen un variado número de componentes, seis de los cuales han sido aislados e identificados. Estas son Soyasapógenos A, B y C y ácido medicagogénico (Potter y Kummerow, 1954; Walter y col., 1955; Djerassi y col., 1957; Van Atta y Guggolz, 1958), un quinto ácido lucérnico fué aislado y parcialmente caracterizado por una compleja estructura aun no del todo conocida (Livigstone, 1959). En análisis recientes se ha detectado el Soyapogenol E en hidrólisis de saponinas de alfalfa (Birk y col., 1968). Entre los

azúcares identificados destacan la arabinosa, xilosa (en cantidades inferiores a la lactosa), raminosa y ácido galacturónico (Walter y col., 1954).

2.8.3.4. Actividad biológica de las saponinas de la alfalfa.

Se ha señalado que las saponinas pueden producir efectos patógenos en los rumiantes, produciendo meteorismo a consecuencia de una alteración de la tensión superficial en el contenido ruminal (McCadlish, 1937; Quim, 1943 ; Olson, 1944. Sobre este tema, destacan los trabajos realizados por el Western Utilization Research Laboratory de EE.UU. y en especial los realizados por Lindahl y col. (1957), en el que se hace una revisión de los mecanismos y los efectos causantes de tales meteorismos. En otros estudios del mismo programa, Thompson y col. (1957) demostraron que la acción causante del meteorismo de las saponinas no era exclusiva del rumen, si no que también existía en el reticulum, cuajar e intestino.

En otro estudio Jackson y col. (1959), determinaron mediante la adición de saponinas por vía intraruminal, la producción de un cambio en el ritmo respiratorio, observando que este estaba altamente correlacionado con el nivel de meteorismo. Sin embargo, en estudios posteriores, el efecto inhibitor de la fracción de la alfalfa

fa sobre la respiración se relacionó con el índice de meteorismo del forraje, siendo la conclusión que la correlación hipotética no era consistente (McWarry y col., 1963). En otro sentido, Gutierrez y col. (1959) aislaron y caracterizaron una bacteria ruminal capaz de degradar las saponinas de la alfalfa y producir un aumento de la viscosidad del contenido ruminal.

La responsabilidad del factor espumante de la alfalfa como productor de meteorismo en ganado vacuno, ha estado en estudio y en contradicción entre diferentes autores.

En la actualidad el factor productor de meteorismo que se había atribuido a las saponinas durante un cierto número de años, está siendo reconsiderado según nuevos datos referidos a su composición química (Howarth y Goglen, 1976). Estos indican que la producción de factores espumosos en las plantas de alfalfa son producidos por las saponinas, pero su contribución es menor que el nivel de proteína existente en la alfalfa.

Efecto de las saponinas de la alfalfa sobre pollos y animales de experimentación.

Las saponinas de la alfalfa parecen ser las responsables parciales de la reducción del crecimiento, consumo y en general de la infrautilización de la alfalfa en pollos (Dropper, 1948; Cooney y col., 1948; Lepkovsky y col., 1950).

Heywang (1950) demostró que la alfalfa deshidratada y la harina de alfalfa henificada, contiene factores que retardan el crecimiento de los pollos, así como la producción de huevos en gallinas ponedoras, cuando se incluyen estas materias en porcentajes de alrededor del 10%. Peterson (1950) lo atribuye a la fracción saponínica, la cual se encuentra en la fracción del extracto acuoso de la alfalfa. Esta fracción deprime el crecimiento de los pollos por propiedades hemolíticas y acción espumosa. Heywang y Bird (1954), alimentaron pollos con niveles graduales de saponinas y demostraron que a niveles de 0,2% producían una ligera inhibición del crecimiento y a 0,4% la inhibición del crecimiento era significativa. Pedersen y col. (1966), desarrollaron un estudio comparativo con saponinas procedentes de diferentes variedades de alfalfa (Du Puits, Uinta, Ranger, y Lohantan), las cuales fueron incluidas a niveles de 0,3% en dietas basales de pollos. En todas las dietas conteniendo saponinas se produjo una reducción en la velocidad de crecimiento y en especial en

el caso de la variedad "Du Puits".

El mecanismo por el cual el efecto negativo de las saponinas de alfalfa puede ser superado y con ello no producir pérdidas en las ganancias de peso, ha sido la adición a las dietas con saponinas de colesterol o fitoesteroles, principalmente B-sitosterol, y con esta inclusión de colesterol y aceite de algodón en la dieta (Peterson, 1950), se supera el problema. También en este sentido, Anderson (1957), indica que la adición del 1% de colesterol en las dietas suprime el efecto negativo de las saponinas presentes a niveles del 0,3%.

En gallinas ponedoras, la presencia de saponinas al 0,3% produce una caída de la producción inmediatamente después de la primera toma y que a los diez días de retirarlas de la dieta experimental, las aves recuperan los niveles de producción iniciales (Heywang y col., 1959; Anderson, 1957).

2.8.4. Taninos en las leguminosas.

Los taninos son sustancias flavónicas, solubles en agua, absorbibles por la pared intestinal y que se excretan por la orina. En esta definición se incluyen

diversidad de compuestos, sin una clasificación oficial.

Harbone (1971), define a los flavonoides como sustancias existentes en las plantas, con una estructura basada en un anillo aromático heterocíclico. Este mismo autor realiza una clasificación de la siguiente forma:

a) Antocianinas: son los pigmentos coloreados de las plantas.

b) Leucoantocianidinas: son los taninos condensados.

Los flavonoides se presentan como glicósidos y están presentes en la mayoría de las leguminosas. Los taninos más corrientes son glicósidos del ácido digálico, el cual se encuentra en los tegumentos de las semillas mas que en los cotiledones, deprimiendo en cualquier caso, el coeficiente de digestibilidad del grano, como es el caso de las habas (Marquardt y col., 1976). En el caso de la alfalfa, este tipo de sustancia no repercute de forma negativa al realizarse el corte con anterioridad a la floración y por consiguiente la imposibilidad de producción de semillas por parte de la planta.

Los taninos han sido estudiados en dietas para

broilers y según Marquardt y col. (1976), son los responsables de la inhibición del crecimiento en dietas a base de habas (*Vicia faba*); sin embargo, en otros trabajos realizados en broilers los taninos no fueron detectados, al no producirse diferencias entre las dietas con habas con taninos y habas sin ellos (Wilson y col., 1972). En conclusión, el efecto antitripsico de los taninos ha sido detectado en el caso de las habas, pero no tiene la importancia que en un principio se estableció (González, 1977).

Lingren (1975), determinó una fuerte correlación entre el coeficiente de digestibilidad de las habas y el contenido de las mismas en taninos. También Guillaume y Niess (1975) describieron unos crecimientos superiores con habas libres de taninos respecto a las normales.

2.9 Producción anual de alfalfa y otras forrajeras en España. Productividad de los sistemas de tratamiento de la alfalfa.

Es interesante el estudio de la producción nacional de alfalfa y veza, al ser la base de la producción forrajera de leguminosas y ser estas especies fundamentales para el proceso de fraccionamiento vegetal.

Las leguminosas forrajeras son vegetales con características esenciales para el mantenimiento de explotaciones productoras de proteína foliar de forma rentable.

Estas características se basan en: bajos costos de fertilización con relación a la proteína producida y asimismo, con un alto potencial de producción, persistencia de crecimiento y una cerrada secuencia entre corte y rebrote.

Producción nacional de alfalfa y veza y su localización.

En la campaña 1976 y según datos del Ministerio de Agricultura de 1978, la producción nacional de alfalfa, veza y otras forrajeras es la que se expresa en la tabla siguiente:

TABLA X - Serie histórica de la producción nacional de alfalfa y otras plantas forrajeras ('000).

Año	Alfalfa		Veza		Trébol		Esparceta		Zulla	
	Ha	Tm	Ha	Tm	Ha	Tm	Ha	Tm	Ha	Tm
1930	75	2,317	24	231	9	213	13	158	6	64
1950	96	2,806	23	179	13	285	20	155	-	-
1960	153	5,743	54	612	25	923	27	310	5	76
1970	254	9,448	99	1,188	30	915	54	576	6	129
1976	316	13,171	124	1,501	21	664	64	804	6	92
Rendimiento										
en 1976	41 Tm/Ha		12 Tm/ha		31 Tm/ha		12 Tm/ha		15 Tm/ha	
Incremento										
1970/76	+ 24	+ 39	+ 25	+ 26	- 30	- 28	+ 18	+ 39	- 15	- 29

Fuente: Anuario Estadístico 1978. Ministerio de Agricultura.

Analizando las tablas anteriores, se comprueba que más del 60% de las hectáreas son de alfalfa. La planta forrajera que se cultiva en segundo lugar es la veza, con 23% de la superficie total destinada a la producción forrajera. Es de destacar la importancia de la producción de trébol, esparceta y zulla, tanto en cantidad de hectáreas utilizadas como en volumen de producción.

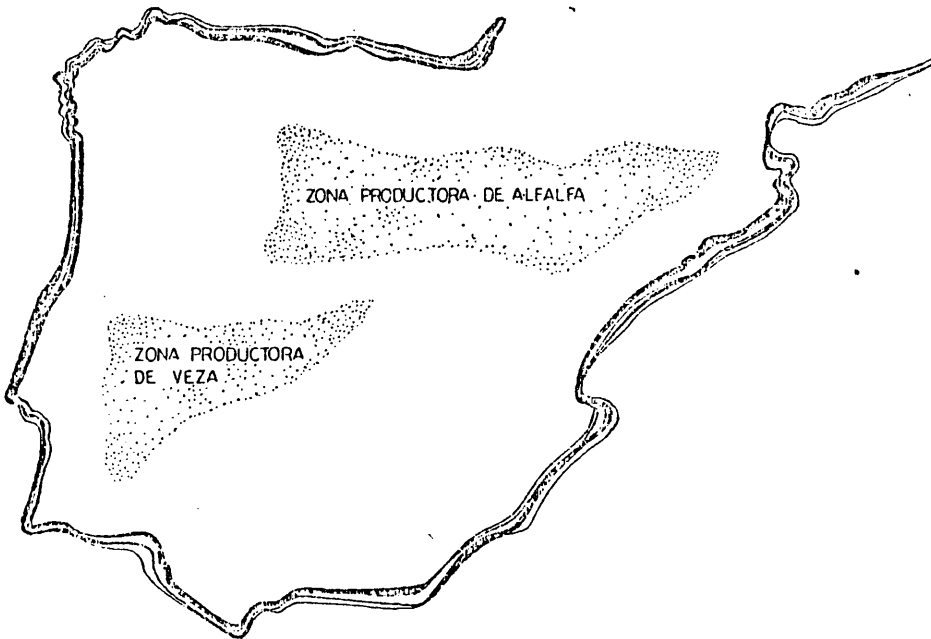
En los datos del Ministerio, se puede observar que los incrementos de producción se deben al gran aumento en el número de hectáreas destinadas a tales cultivos; sin embargo, la productividad por hectárea, aunque ha aumentado, no se puede considerar como responsable.

En el futuro, será importante el incremento de la productividad, y en este mismo sentido, se puede considerar que sí se ha producido en la última década, y no así entre los periodos anteriores a los años setenta. Esta tendencia será, junto con las mejoras en el cultivo, una buena base para la aplicación de los sistemas de fraccionamiento vegetal.

Desde el punto de vista regional se puede señalar que entre las zonas del Duero, Ebro y Noroeste se produce más del 60% de la producción nacional de alfalfa, y en el caso de la veza el 60% se encuentra en los centros de pro-

ducción de Extremadura, Andalucía occidental y Región centro.

FIGURA Nº IV - Localización de las producciones de alfalfa y veza



Las hectáreas empleadas para la producción de forrajes en regadío son más del 70%, en el caso de la alfalfa, y tan solo el 10% en el caso de la veza.

Productividad de diferentes sistemas de fraccionamiento.

Al encontrarse nuestro país con una población en crecimiento y con un desarrollo industrial intenso, nos enfrentamos a una situación de demanda de alimentos cada vez mayor. Pero como en años precedentes, se ha descuidado el desarrollo agrario y nuestra balanza agraria, en lo referente a productos básicos como son maíz, sorgo y soja, se encuentran en una situación de total dependencia exterior.

Por todo lo expuesto, la posibilidad de utilización de materias primas de origen nacional, aunque sea con soporte de procesos industriales, como es el caso del fraccionamiento, tiene su interés, tanto por su capacidad de inversión en el sector agrario, como por el descenso de las divisas destinadas a la importación de materias primas.

La finalidad de la producción de proteína foliar por medio del sistema de fraccionamiento, está en la lí-

nea de maximización de la productividad de la hectárea agrícola, en el caso particular de la protefna. Así, la ya conocida "revolución verde" basada hasta ahora en el aumento de la producción por hectárea, así como por la posibilidad de utilización de mayor número de hectáreas sin cultivar, se encuentra en crisis a consecuencia de su dependencia con otros sectores, como el industrial (abonos, energía, mecanización, etc.), pero la situación actual es la de seguir admitiendo la necesidad de conseguir el máximo rendimiento de la tierra y, a su vez, la obtención y optimización de sistemas de producción a menor coste. En el caso de la alfalfa, los sistemas industriales utilizados tienen un coste energético elevado, y por ello durante el último quinquenio, tanto la producción como la capacidad de desarrollo se encuentran estabilizados.

Así, y mientras no se determine la posibilidad de procesado de la alfalfa en condiciones menos costosas y a su vez más productivas, como es el caso de las protefnas foliares obtenidas por fraccionamiento, el cultivo de la alfalfa y otras plantas forrajeras no cumplirá con la finalidad de la "revolución verde".

Rendimiento de los diferentes sistemas actuales de fraccionamiento.

En diversos países existen diferentes sistemas

de fraccionamiento, entre los que destacan VEPEX (Hungría), PRO-XAN (Francia), POLY-PROTEIN (Italia), BELT-PRESS (Inglaterra), APROALFA (España) y PRO-XAN (Estados Unidos).

Los distintos sistemas de fraccionamiento tienen un escaso rendimiento en concentrados de proteína foliar, si se comparan con la totalidad de la alfalfa utilizada. Sin embargo, aunque esta cantidad es relativamente pequeña, su repercusión es elevada ya que en los sistemas usados anteriormente, excepto con la deshidratación, parte de la proteína obtenida mediante este proceso se desaprovechaba.

Con el sistema italiano POLY-PROTEIN, realizado y dirigido por Galoppini (1977), la producción de proteína foliar sobre 100 kg. de alfalfa es de 2 kgs. En España, Rivadulla (1978) mediante el proceso APROALFA, obtiene una producción entre el 2,5 y 3% de la alfalfa utilizada. También este autor considera que en la planta de fraccionamiento actualmente utilizada en Lérida, en la comarca del Segria, con una recepción de 50.000 Tm. de alfalfa fresca, se producen 25.000 Tm./año de pulpa y cerca de 1.300 Tm./año de proteína foliar. Maslinkok y co. (1978) realizaron un estudio en Bulgaria sobre el fraccionamiento de la alfalfa y secado de la misma, obteniendo cifras parecidas a las del proceso español, calculando la capaci-

dad de producción de proteína foliar entre el 2 y el 3%.

Es de destacar entre los trabajos recientes, los realizados por el grupo de investigadores del Western Regional Research Center, Agricultural Research Service, U.S. Department of Agriculture, Berkley, California. Estos trabajos han sido realizados para aumentar la productividad del sistema de fraccionamiento en cuanto a la producción de proteína foliar. En este sentido Edwards y col. (1978), señalan que el contenido de proteína foliar puede aumentar entre el 15 y 21% al adicionar los solubles del proceso de fraccionamiento sobre la alfalfa fresca sin fraccionar.

Capacidad de sustitución

La producción de proteína foliar en España, tiene como finalidad la de ser utilizada como materia prima, rica en proteína y xantofilas, en la alimentación animal para animales no rumiantes, y en un sentido muy particular, para la avicultura.

Considerando lo expuesto por Kuzmicky (1977), de que la proteína foliar es una soja verde, se puede determinar de forma utópica el nivel de sustitución de soja importada por proteína foliar producida, através del proceso global de toda la alfalfa que se produce en España.

En España se producen cerca de 13.000.000 Tm de alfalfa, de las cuales mediante fraccionamiento se podrían obtener cerca de 396.000 Tm. de proteína foliar, con lo que solo valorando su contenido proteico al precio actual de la soja, nuestro país invertiría en el sector agrario 7.900 millones de pesetas y reduciríamos así el dispendio en divisas a pagar por la soja (cifra que se encuentra por encima de los 45.000 millones de pesetas anuales). Así con tales medidas reduciríamos en un 17% nuestra demanda en proteína en forma de soja.

En este mismo aspecto, Jones (1977) en Inglaterra también considera que con tan solo la extracción del 25% de la proteína existente en los forrajes por este sistema de fraccionamiento y sobre un 14% de los pastizales, se podría suplir la proteína normalmente importada en su país para la alimentación del ganado porcino y avicultura.

2.10. Antecedentes en nutrición

Son pocos los autores que analizaron y estudiaron en el siglo pasado la posibilidad de utilización de las proteínas foliares. En principio esto se debía a que sólo tenía interés la extracción de la proteína existente en los granos. Uno de los motivos del escaso estudio de las proteínas foliares se debía a la opinión de ciertos autores como Lawes (1885), quién comentó: "Mediante procesos

químicos es posible producir sustancias nutritivas a partir de la hierba y ser utilizadas por el hombre como alimento. Ahora bien, el alimento extractado puede ser más costoso que la hierba, por lo que opino que la preparación de alimentos para ganado es improcedente. Sin embargo, como mecanismo, el sistema es bastante competente para separar los nutrientes de la fracción indigestible del alimento". El comentario de Lawes estaba justificado en cuanto a rumiantes y también en cuanto a la alimentación humana, aunque no pudo ser llevado a la práctica hasta que se iniciaron los trabajos de la Estación Experimental de Rothamsted, Inglaterra.

En nuestro siglo, los primeros estudios fueron realizados, según indicó Pirie (1978), por Wintersein (1901), el cual obtuvo proteína procedente del secado de hojas con diluciones en alcalis. Posteriormente, se iniciaron trabajos sobre la década de los 20, que fué cuando Osborne dejó temporalmente sus estudios sobre el tema de la proteína de los granos.

Los primeros ensayos experimentales fueron realizados por Osborne y Wakeman, 1920; Osborne y col., 1921; etc., en ellos se estudiaron preparaciones de espinacas y alfalfa, obtenidas por la extrusión de las hojas, y retirando los granos gruesos mediante filtración y coagulando el líquido con alcohol.

Una vez obtenido el producto por los autores reseñados anteriormente, la dificultad estaba en determinar su valoración desde un punto de vista nutricional, y esto no fué posible hasta la publicación de los trabajos realizados por Chibnall (1922). Los primeros estudios presentados por este autor fueron realizados con coles (*Brassica Olearacea*) y guisantes (*Phaesolus vulgaris*).

Posteriormente, diversos autores han estudiado químicamente la composición de este producto, así como la influencia de los sistemas o procesos aplicados y la diversidad de variedades utilizadas. Sin embargo, se ha llegado a una misma conclusión, esta es la de que cuanto más joven es el vegetal y mayor su contenido en proteína y agua, mayores son los porcentajes de extracción proteica. También con una subdivisión cuidadosa y el mantenimiento de condiciones alcalinas durante la extracción, se obtienen mejores resultados.

2.10.1. Factores que influyen sobre su composición y valor nutritivo.

El valor nutricional del concentrado de proteína foliar como componente para la alimentación animal y en especial para no rumiantes, fué descrita de forma amplia por Woodhan (1971) y posteriormente fué revisada por Morris (1977).

La mayoría de las muestras de concentrados de proteína foliar contienen alrededor de 55% de proteína bruta, como indican los datos aportados por Gerloff y col. (1955). Si las muestras contienen niveles inferiores de proteína, puede indicar que se ha producido contaminación de la cosecha utilizada, o bien que los concentrados son causa de adulteración, adición de solubles así como por la mezcla de fracciones fibrosas.

La composición aminoacídica de la proteína de las hojas, es marcadamente independiente del tipo de vegetal, constitución de la planta y edad de la misma (Chibnall, 1963; Gerloff y col., 1965; Byers, 1971). Otros investigadores (Chessman, 1977), señalan que la variación en la composición aminoácídica puede deberse a la especie, al estado de crecimiento y a la estación climatológica. Según Morris (1977), sin embargo, estas variaciones no pueden considerarse importantes, ya que son debidas a multitud de factores variables, entre ellos la simple toma de muestras.

Al ser el concentrado de proteína foliar una materia prima obtenida por procesos industriales basados en precipitación y posterior secado, estos pasos pueden ser responsables de efectos negativos para la proteína y por supuesto producir una pérdida de la calidad nutritiva.

El control de la calidad del concentrado de proteína foliar es de gran importancia por la repercusión que tiene cualquier cambio del proceso industrial sobre la composición y por tanto, sobre su valor nutritivo. Así en todos los sistemas de procesamiento industrial, los mecanismos ofrecen unas garantías con un elevado porcentaje de seguridad; sin embargo, existe la posibilidad de un fracaso técnico. Un ejemplo es el descrito por Cheeke (1975). Este autor determinó un factor limitante del crecimiento en cerdos con una dieta constituida con proteína foliar (PRO-XAN, americano), la cual por defecto del proceso tenía unas pérdidas muy considerables de lisina disponible.

El problema detallado por Cheeke confirmó los trabajos realizados anteriormente por Allison (1973), quien demostró una correlación entre el contenido total de lisina de la muestra y la digestibilidad verdadera, la que a su vez presentaba una buena correlación con la lisina disponible y la digestibilidad real.

Uno de los factores con mayor incidencia sobre la calidad de la proteína, es la decisión industrial de producir una precipitación separada de las fracciones citoplástica y cloroplástica, existentes en los concentrados de proteína foliar (Bray, 1977). Está demostrado que la

fracción citoplasmática tiene una alta digestibilidad, equivalente a las mejores proteínas; sin embargo, la calidad de la proteína de la fracción cloroplástica es inferior. La explicación de tal efecto es dada por el hecho de que la fracción cloroplástica contiene proteína estructural de la pared celular del vegetal, y esta es más difícil de atacar por los procesos enzimáticos del tubo digestivo. Toda esta amplitud de diferencias entre las dos fracciones ha hecho iniciar la posibilidad de utilización de la proteína citoplasmática (proteína blanca) para la alimentación humana y la fracción cloroplástica para la alimentación animal.

La composición aminoacídica de la fracción cloroplástica es similar a la del concentrado de proteína foliar completo, excepto en la concentración de lisina, la cual se encuentra a un nivel de 5,8% del total de la proteína y con ello está comparativamente en grado inferior al 6,8% observado en el concentrado de proteína foliar no fraccionado (Byers, 1971).

2.10.2 Composición nutricional de los concentrados de proteína foliar sin fraccionar.

Extracto libre de nitrógeno

La cantidad de extracto libre de nitrógeno en los

concentrados de proteína foliar y en especial en el caso de la alfalfa, es escaso. En el fraccionamiento, la cantidad de hidratos de carbono que se encuentran en el concentrado, son los existentes en el jugo procedente de la extrusión (Ver Tabla VII, Chessemann, 1977).

El porcentaje de almidón y azúcares, es similar en las diferentes variedades. Si se compara la proteína foliar con la soja, se comprueba que la soja es más rica que la proteína foliar en hidratos de carbono, en especial en almidón. Sin embargo, en ambas la repercusión de esta fracción en la capacidad energética es poco importante.

Según datos propios no publicados, el porcentaje de hidrato de carbono es prácticamente nulo y tan solo contiene un 1,5% de azúcares totales. También se puede indicar que esta fracción ha sido tomada en poca consideración por la bibliografía internacional.

Composición del extracto etéreo.

El concentrado de proteína foliar contiene alrededor de 22 a 29% del total de los lípidos existentes en la planta original, determinado mediante una extracción por cloroformo y metanol (Buchnan, 1969 y Byers, 1971).

Por medio de otros métodos, incluyendo la extracción por éter, se puede obtener la mitad del total de los lípidos existentes (Hudson y Karis, 1973; Gastineau, 1975).

La digestibilidad de la fracción lipídica del concentrado de proteína foliar, ha sido muy poco estudiada. Hove y col., (1974), indicaron que la digestibilidad aparente es del 88%, cuando solo un 10% del concentrado de proteína foliar de alfalfa se incluía en la dieta. También en el mismo trabajo, se indica que la digestibilidad decrece al 75% cuando se incluye al 30% en el pienso.

Kuzmicky (1972), valoró en gran manera el contenido del extracto etéreo del concentrado de proteína foliar en su comparación de valor energético con la harina de soja.

La composición en ácidos grasos del extracto lipídico, en el concentrado de proteína foliar fue estudiado por Hudson y Karis (1973 y 1976), detectando un 10% de ácido linoleico y un 64% de ácido linolénico como porción total de los ácidos grasos. La homogeneidad de la composición de los ácidos grasos en el concentrado de proteína foliar no se puede indicar al ser imposible valorarlo, a consecuencia de la diversidad de las especies (Lima y col., 1965). Este mismo autor señaló que el con-

tenido de ácidos grasos en el concentrado de proteína foliar, puede oscilar entre 2,5 y 8,4%; en este sentido, los datos medios son de 0,5% de ácido linoleico y 3,2% de ácido linolénico en un concentrado de proteína foliar con un 10% de humedad.

En concentrados de proteína foliar procedente de hojas de soja, estas contienen 8,9% de lípidos, de las cuales el 70% son ácidos grasos insaturados. El contenido en linolénico es de 33,9% y linoleico 18% y el porcentaje de los saturados es de 15% de palmítico y 7% de esteárico (Ali y Peng, 1978).

Desde el punto de vista nutricional las mejoras de las funciones aportadas por el ácido linolénico y ácidos grasos esenciales han sido reseñados para ratas y no para pollos (Scott y col., 1969). Sin embargo, las dietas son raramente deficientes en ácidos grasos esenciales; sin embargo, el peso del huevo en ponedoras puede aumentar con la adición de ácido linoleico sobre las necesidades. Ahora bien, este mismo efecto no ha sido bien detectado para el ácido linolénico.

Composición en minerales.

El porcentaje de cenizas puede ser consecuencia

de diversos factores y entre ellos varios que no tienen ninguna relación con la constitución de la materia prima utilizada. Según como se realiza el corte de la alfalfa se puede incrementar la cantidad de la tierra que se incluye en el material. También en casos de contaminación de la materia prima utilizada, el jugo arrastra partículas pequeñas y con ello se altera la composición del concentrado de proteína foliar.

Subba Ray y col. (1972) señalan haber detectado entre 16 y 37% de cenizas en muestras de concentrado de proteína foliar, procedentes de plantaciones de remolacha y zanahorias. En general los valores típicos de cenizas se encuentran entre el 6 y 8% del total.

Cuando se precipita la fracción cloroplástica, en ella se arrastran la mayoría de los minerales suspendidos. El contenido es el doble del contenido en minerales de concentrado completo de proteína foliar.

El nivel de minerales en el producto final puede depender de la extrusión y lavado aplicado antes del secado del concentrado de proteína foliar.

Si se adiciona el jugo desproteínizado al concentrado de proteína foliar, se produce un aumento del

minaron en el proceso industrial PRO-XAN, entre 1300 a 1400 mg./kg. de xantofilas en concentrados de proteína foliar de alfalfa. En este sentido, los autores del proceso americano PRO-XAN, indican la posibilidad de variación del nivel de xantofilas en relación a la madurez del vegetal. También consideran y valoran la influencia de la temperatura y sus efectos negativos sobre la conservación del producto en fase de almacenamiento, así como la necesidad de adición de productos antioxidantes (Witt y col., 1971). Kuzmicky (1972 y 1977) señala valores de xantofilas entre 900 y 1200 mg./kg. de concentrado.

En Francia, tanto los autores del proceso como las publicaciones técnicas sobre el producto sitúan el contenido de xantofilas en el concentrado de proteína foliar, entre 800 y 1000 mg./kg. Sin embargo, los trabajos publicados por Maslinkov (1978), indican valores de xantofilas entre 450 y 620 mg./kg. Nuestros datos, no publicados, se sitúan asimismo entre los valores indicados por Maslinkov. La composición cualitativa de las xantofilas de alfalfa y por tanto, del concentrado de proteína foliar es de un 90% de dihidroxipigmentos, y casi en su totalidad, luteína.

En otro tipo de concentrados de proteína foliar,

como es el caso del de las hojas de patatas (Walter y col., 1978), el contenido de xantofilas también se encuentra alrededor de 1000 mg./kg. de producto.

Composición del extracto nitrogenado.

La composición nitrogenada del concentrado de proteína foliar de alfalfa, se encuentra según datos de Gerloff (1965), alrededor del 55%. Otros autores también señalan composiciones parecidas en cuanto al total de proteína bruta; así podemos señalar los datos aportados por Byers en 1971, obtenidos en la Estación Experimental de Rothamsted. Sin embargo, Kuzmicky (1972), indica valores inferiores sobre concentrados obtenidos por el proceso PRO-XAN americano, aunque estos datos no son comparativos con otros posteriormente publicados por este mismo autor, los cuales confirman un contenido en proteína superior al 50%.

El extracto nitrogenado, es decir, la proteína total obtenida por el proceso de fraccionamiento, puede variar en cantidad (Byers, 1971), pero la composición aminoacídica, si se trata de una misma especie, es invariable a pesar de los diferentes variables a que puede estar sometida la planta.

La característica fundamental del aminograma,

desde un punto de vista nutricional, es de que el concentrado de proteína foliar tiene una estructura aminoácídica equilibrada, con un porcentaje de lisina entre el 5,6 y 7,3% del total de la proteína (Byers, 1971) y con solo la metionina como aminoácido limitante en ciertas condiciones y necesidades.

Por el interés que tiene como materia prima básica en aporte de aminoácidos, Byers (1971) estudió (Tabla XI) la comparación entre la composición aminoácídica de diferentes concentrados de proteína foliar y las recomendaciones de la FAO.

TABLA XI - Tabla comparativa entre la amplitud aminoácídica de los concentrados de proteína foliar y la recomendación de la FAO.

Aminoácidos	Amplitud CPF (21 especies)	Recomendaciones FAO 1965 (provisional)
Isoleucina	4,5 - 5,5 %	4,2 %
Leucina	8,8 - 10,2 "	4,8 "
Lisina	5,6 - 7,3 "	4,2 "
Metionina	1,6 - 2,6 "	2,2 "
Fenilalanina	5,5, - 6,8 "	2,8 "
Treonina	4,7 - 5,8 "	2,8 "
Triptófano	1,2 - 2,3 "	1,4 "
Tirosina	3,7 - 4,9 "	2,8 "
Valina	5,9 - 6,9 "	4,2 "

(Byers, 1965)

Ferrer y col. (1977) también consideran que el concentrado foliar obtenido de Chenopodium Album, cumple con las condiciones de FAO, excepto en la metionina.

2.10.3. Valoración energética.

Pocos han sido los estudios sobre la valoración energética de este producto. En este tipo de valoraciones, concurren diversos efectos, como la calidad del material utilizado, así como las técnicas utilizadas para determinarla y la consecuencia es la diversidad de valores obtenidos.

Morris (1977), en su revisión indica que el valor energético de un concentrado de proteína foliar para avicultura con 55% de proteína bruta y el 20% de lípidos, es de 16,1 kj./gr., o 3850 Kcal/kg., según la fórmula de Carpenter y Clegg (1956).

Los valores obtenidos en ensayos biológicos (Morris, 1977), expresados en energía metabolizable (no publicados) son, el concentrado de proteína foliar, de 11,4 kj./gr. ó 2730 Kcal/kg., en aves ponedoras. La diferencia existente entre estos datos y los anteriores, se debe, según su autor, a la baja digestibilidad de los

lípidos en las muestras utilizadas, así como a la evidencia de la oxidación de los lípidos existentes en el concentrado de proteína foliar antes del secado.

En Francia, Gastineau (1975), indicó que el valor energético es de 10,9 kj./g., ó 2608 Kcal/kg. para muestras comerciales de concentrado de proteína foliar.

En broilers, Kuzmicky y Kohler (1977), realizaron dos ensayos destinados a determinar la energía metabolizable de cuatro muestras de concentrado de proteína foliar, obtenidas en el proceso PRO-XAN. Los datos obtenidos, expresados sobre materia seca se encontraban entre el 51 y 68% de proteína y 2577 a 3182 Kcal/kg. respectivamente.

2.10.4. Digestibilidad "in vivo" e "in vitro" de la proteína de la alfalfa y concentrados.

A pesar de reconocer el potencial de producción de proteína por parte de la alfalfa y a su vez los beneficios que puede aportar en la actualidad el sistema de fraccionamiento, es preciso considerar, que al ser un proceso industrial, se pueden producir diferentes variaciones en los diversos pasos y esto puede ser causa de alteraciones en la digestibilidad, haciendo que con ello no se

alcance un rendimiento adecuado.

En este sentido, destacan los trabajos realizados por Byers (1971b), en la estación de Rothamstad. Los resultados de estos trabajos indican que las pérdidas en el valor nutritivo, pueden deberse al proceso. Por ello se sugiere la utilización de estudios de digestibilidad in vitro, para determinar el valor nutritivo y conocer a su vez, el deterioro de la materia.

Desde un inicio, en que se demostraron pérdidas de valor nutritivo y de digestibilidad de la proteína sometida a un proceso de calentamiento, se han realizado estudios para determinar los efectos producidos por los procesos de fraccionamiento, sobre la calidad nutricional de los concentrados. Buchanan y col. (1969), demostraron que el calentamiento a 60°C produce escasas pérdidas en la digestibilidad y en cambio, sí son importantes las pérdidas, cuando se mantienen temperaturas superiores a los 100°C para el secado del concentrado, o bien, para el paso anterior a la coagulación.

Las pérdidas de la digestibilidad, según Buchanan, fueron atribuidas a diferentes reacciones: a) reacción del complejo lipídico, y b) modificación de la proteína. Sin embargo, el sistema aplicado por Buchanan

para determinar la digestibilidad in vitro, no mantenía una correlación con las pruebas in vivo.

Así, la necesidad de valoración del valor nutritivo del concentrado de proteína foliar de alfalfa, por medio de análisis de digestibilidad in vitro y con una alta correlación con la digestibilidad in vivo, no fueron detallados, hasta las técnicas de detección aplicadas por Booth y col. (1972), las cuales utilizan una digestión con Pronosa (proteosa fúngica), de similar acción al sistema basado en el índice de pepsina - pancreatina aportada por Akesson y Stahman (1964). En este sistema, basado en la incubación del producto problema en un cultivo fúngico, la digestibilidad de la proteína era quizás inferior al sistema pepsina - pancreatina, pero podía obtenerse una correlación entre la digestibilidad in vivo e in vitro de gran fiabilidad.

Tiene gran interés el estudio realizado por Booth (1972), sobre la problemática que se produce durante el proceso de la alfalfa. En este trabajo se señalan diversos problemas causados por los mecanismos del proceso, e investigados por colegas del autor, dirigidos por Kohler.

Los aminoácidos esenciales, especialmente la

lisina, se ven afectados por la disminución de la humedad, o bien por el aumento de la temperatura durante el secado. Causas parecidas producen descensos en el contenido de xantofilas y carotenos, cuando la temperatura de secado aumenta.

La digestibilidad de la proteína, según Booth (1972), decrece con el aumento de la temperatura de secado y principalmente cuando pasa de 120°C a 130°C. A este nivel de temperaturas se produce asimismo una disminución substancial del contenido en xantofilas. Como resumen, Booth (1971), detalla la relación existente entre el contenido en xantofilas y la digestibilidad de la proteína. Esta relación de signo positivo, se demuestra y se observa en la alfalfa deshidratada, así como en concentrados de proteína foliar obtenidos mediante el proceso de fraccionamiento.

El efecto que produce la coagulación por calor, utilizado en diversos sistemas de fraccionamiento, sobre la digestibilidad, determina que en una coagulación realizada entre 80 y 85°C, el factor determinante más importante en la pérdida de la digestibilidad, es el tiempo que el coágulo se mantiene en el tanque de coagulación, después de realizada la coagulación. De este modo,

Booth (1971), y el grupo Kohler (1972), indican que para mantener un alto grado de digestibilidad de la proteína y un elevado contenido en xantofilas, el coágulo proteico debe retirarse, si es posible, rápidamente después de su coagulación.

2.10.5. Métodos para mejorar la calidad nutricional en el almacenamiento.

La calidad nutricional del concentrado de proteína foliar es buena pero, según la aplicación de sistemas de almacenamiento, su calidad puede sufrir pérdidas importantes. La actuación de los investigadores se ha basado en evitar y aportar productos favorecedores de la productividad del sistema de fraccionamiento, y a su vez, desde otro ángulo, en la adición de nutrientes, como son aminoácidos azufrados.

En otro aspecto se han realizado estudios para determinar si es posible separar fracciones en el total del concentrado, con la finalidad de utilizarla para diferentes fines a causa de una mayor calidad por parte de algunas fracciones.

La conservación del jugo de la hoja tiene un gran

interés para mantener la calidad nutricional del producto final. Así, el estudio de la actividad proteolítica, en los extractos de las hojas, nos indica que a través del proceso enzimático, el nitrógeno proteico se transforma en nitrógeno no proteico y con ello, en el caso de los rumiantes no se producen grandes pérdidas en su valoración nutritiva, aunque sí afecta la composición de los aminoácidos. La utilización de temperaturas elevadas puede producir una esterilización de los gérmenes durante un periodo corto de tiempo, pero como las necesidades de conservación son prolongadas es preciso adicionar ácidos fuertes como fórmico, fosfórico, etc., hasta alcanzar pH inferiores a 3 (Pirie, 1977).

La revisión inicial de Pirie (1971), destaca los trabajos de Subba y col., (1967), en los que se indica que con la incorporación de ácido acético en la concentración de 2%, junto con 0,2% de aceite de piel de naranja, en el contenido húmedo del jugo recién exprimido, se consigue conservar las proteínas foliares más de un año, a la temperatura ambiente.

2.10.5.1. Suplementación

Desde el estudio inicial de Chimball (1922), se consideró la composición aminoacídica de las proteínas fo-

liares como muy adecuada, desde un punto de vista nutricional, por contener todos los aminoácidos esenciales en cantidades suficientes. Sin embargo, en la actualidad se ha llegado a determinar, gracias a las nuevas técnicas analíticas, que no todos los aminoácidos de la proteína foliar, se encuentran en concentración no limitante. Por este motivo, el concentrado de proteína foliar no puede usarse como única fuente en proteína para una dieta y debe suplementarse con otras materias ricas en proteína y así mejorar su capacidad nutritiva.

El primer aminoácido limitante en el concentrado de proteína foliar es la metionina o cistina, o bien, la suma de los dos. Los estudios iniciales sobre este tema han sido realizados por Booth (1972), quién también indicó en sus trabajos el índice PER (nivel de eficiencia proteica), para diferentes muestras comerciales de concentrados de proteína foliar en dietas para ratas.

La conclusión de Booth es de que las dietas con concentrados de proteína foliar y con la adición de metionina, obtenían índices PER comparables a los obtenidos con dietas a base de caseína, y por consiguiente los concentrados de proteína foliar son deficientes en aminoácidos azufrados.

Según análisis de la composición de aminoácidos realizados por Gerloff y col. (1965), la metionina se encuentra en aproximadamente el 2% del total de la proteína; a su vez, Gerloff y col. (1965) y Tilley (1965), estiman la composición de la cistina entre el 0,7 y 0,8% del total de la proteína (estimaciones que pueden ser bajas al ser la cistina destruida por la hidrólisis).

En el trabajo de Morris (1977), se hace referencia a los sistemas de estimación de los aminoácidos azufrados existentes en los concentrados de proteína foliar realizados por Byers (1976a). Este sistema se basa en la oxidación de todos los sulfatos orgánicos y la posterior determinación de los sulfatos en la muestra. Así, el contenido de aminoácidos azufrados, utilizando la técnica anterior se sitúa alrededor del 4,5% del total de la proteína (Byers, 1976b).

Las estimaciones de las necesidades en aminoácidos azufrados, dadas por el Agricultural Research Council (ARC) y como porcentaje del total de la proteína necesaria son de 3,5% para cerdos en crecimiento, 4,9% para pollitos y 2,8% para gallinas ponedoras (ARC, 1967 y 1975). En consecuencia, tanto para la avicultura como para la porcicultura, las dietas basadas en concentrados

de proteína foliar y cereales, se hallan en los límites de deficiencia en metionina más cistina (Woodham, 1971).

La conocida suplementación de metionina para las dietas para ratas (Booth, 1971), reafirman los resultados de los estudios realizados por Shurpalekar (1969), citados en los trabajos de Woodham (1971) y Morris (1977).

En las publicaciones de Shurpalekar y col. (1969), se indica que la lisina existente en el concentrado de proteína foliar es adecuada y esto se evidencia al adicionar a las dietas este aminoácido y no detectarse respuesta, tanto en crecimiento como transformación.

2.11. Utilización en alimentación

En la situación actual, la humanidad precisa de una maximización de la producción de alimentos, para poder superar todas las carencias que se producen en las diferentes poblaciones subdesarrolladas. El informe Wartman (1978), indica que uno de los mecanismos que precisan los países subdesarrollados y con problemas de superpoblación, debe basarse en un amplio y concentrado esfuerzo hacia la agricultura, y a su vez, prestar menor

interés a los sectores industriales (sector secundario), en regiones subdesarrolladas.

La obtención de la proteína existente en las hojas, por medio de procesos industriales tiene como finalidad aumentar la utilización de los recursos existentes en las plantas forrajeras o en partes de los vegetales no utilizadas actualmente en cosechas de remolacha, patatas, etc.

Hasta ahora, los alimentos de origen vegetal mayoritario en las diferentes poblaciones han sido el trigo, arroz, maíz, patata, cebada, etc. En cada civilización existe un cereal como alimento base, pero en todas ellas, ha existido una materia prima rica en proteína, la cual siempre ha tenido un aminoácido limitante. Así, la utilización de materias primas ricas en proteína, como las leguminosas y sus productos, pueden aportar los aminoácidos esenciales.

Otro de los conceptos que favorecen y justifican la utilización de la proteína foliar es que aporta un contenido adecuado de aminoácidos, tal como lo indica Byers (1971).

TABLA XII - Aminograma

	FAO %1)	Huevos 2) gallina %	Cebada %3)	Soja %3)	CPF %4	CPF %5)
Isoleucina	11,1	12,9	9,8	11,5	11,1	11,2
Leucina	19,4	17,2	19,8	19,0	18,5	20,6
Lisina	15,3	12,5	9,9	15,2	13,9	13,3
Total aromáticos	16,7	19,5	23,0	20,9	21,0	21,4
Total azufrados	9,7	10,7	11,0	8,0	7,3	5,9
Treonina	11,1	9,0	9,6	9,5	10,8	10,9
Valina	13,9	14,1	14,2	12,7	14,1	13,3
Triptófano	2,8	3,1	3,4	3,3	3,1	3,4

- 1) FAO, 1973
- 2) FAO, 1965
- 3) FAO, 1975
- 4) Bickoff y col., 1975
- 5) Gerloff, Lima y Stahman, 1965

De la Tabla XII de Heath (1977), se puede deducir que la proteína foliar tiene un gran parecido con la soja, y por este motivo, su utilización en alimentación está justificada. En especial está justificada su utilización

en alimentación animal para no rumiantes (Woodham, 1971).

La alimentación humana no ha podido justificar la utilización de concentrados de proteína foliar sin fraccionar, como sugería Pirie (1975), el cual apoyaba su utilización en el contenido proteico, lipídico, carbohidratos y precursores de la vitamina A (b-caroteno). Esto se ha producido por las críticas debidas al color, sabor y gusto amargo.

Los factores negativos no son de gran importancia en si mismos, pero si se comparan con su nula presencia en otras materias primas, dan como resultado la dificultad de introducción en la alimentación directa del hombre.

2.11.1. Consumo humano

El primer problema que tiene la introducción de los concentrados de proteína foliar en la dieta humana ha sido su aceptación.

La posibilidad de utilización de la proteína de las hojas en alimentación humana, ha sido bien reconocida

y discutida. Sin embargo, el criterio aceptado ha sido el seguido por Osborne y Wakeman en 1920, quienes dijeron : " Si se puede aprender a separar la proteína de las hojas , habremos obtenido un producto alimenticio de un alto valor ". Según Pirie (1971), solo será posible utilizar toda proteína de las hojas , si esta tiene una textura blanda, color menos oscuro y buena calidad nutricional. Pirie también señaló que este tipo de producto fué usado por Rouelle, hace más de doscientos años.

De hecho , en la alimentación humana se ha producido una laguna evidente en las últimas décadas, ya que se conoce su utilización por primera vez durante el hambre de Bengala en 1943 (Guha, 1960), y hasta la actualidad no se ha iniciado otra vez su estudio (Bray y col., 1976).

En la actualidad, y de forma práctica, solo se conocen tres tipos de productos derivados de los concentrados de proteína foliar, aptos para la alimentación humana. Estos son : Concentrado purificado, Concentrado extractado y Concentrado fraccionado o aislado. cuyas características se reseñan en la Tabla XIII.



TABLA XIII - Composición general de los productos para consumo humano en materia seca.

	Concentrado Purificado	Concentrado Extractado	Fraccionado Aislado
Cenizas	2-5	2-5	0,5-1
Fibra	0,5-1,5	0,5-1,5	0
Carbohidratos	10-25	15-30	5-20

(Bray, 1977).

Descripción del concentrado de proteína foliar purificado.

El concentrado purificado es un refinado del material usado para alimentación animal. Este producto fué utilizado y desarrollado por Pirie y col. (1942), siendo destinado en forma exclusiva para la alimentación humana.

El esquema de producción del contenido purificado se encuentra expuesto en el informe de Bray (1977).

Este se basa en una doble separación del producto del coágulo con doble secado.

Este producto se debe conservar de forma que cumpla con los requisitos indicados anteriormente por Subba Rau y col. (1967), y los también indicados por Arkcoll (1973), el cual considera que con ácido láctico o cloruro sódico, a niveles del 15% tienen un buen uso.

Experimentalmente ha sido estudiado en diversas pruebas en alimentación humana (Waterlow, 1962; Doraiswamy y col., 1969; Olotunbosun y col., 1972). Este material, en la actualidad está siendo utilizado en un amplio proyecto localizado en Coimbatore, India, por Bray y col. (1976).

En este sentido, cabe destacar los datos aportados por Bray (1977), sobre datos obtenidos en un ensayo con niños de la India y con dietas normales, suplementadas con concentrados de proteína foliar purificada y leche desnatada.

La importancia de los resultados aportados por el Sri Avinashiliu Home Science College de la India, son recogidos por Bray (1977), en su informe y reunidos en la Tabla siguiente:

TABLA XIV - Aumento de altura y ganancia de peso

	<u>Aumento de altura, cm.</u>	<u>Ganancias de peso, kg.</u>
Base de los niños	2,55	0,55
Niños dieta control	2,85	0,75
Dietas control con CPF	3,50	1,00
Dietas control con leche desnatada	4,15	1,20

(Bray, 1977).

Como se puede observar en la Tabla anterior, las dietas control suplementadas aportan un mayor crecimiento y ganancias de peso, que las dietas básicas. Sin embargo, las dietas suplementadas con leche dan mejores resultados. Bray (1977), considera que los concentrados de proteína foliar utilizados podían estar en condiciones poco satisfactorias.

Bray (1977), indicó que mediante la elevación del pH por encima de 7,0 y una posterior centrifugación del jugo, se obtenía mejor calidad nutricional, a consecuencia de la separación de las partículas cloroplásticas. El contenido de proteína foliar de alfalfa, sometido a tales

procesos, aumenta sus posibilidades nutricionales entre el 60 y 70 %.

Sin embargo, el concentrado de proteína foliar, en opinión de Bray (1977) , está todavía en desventaja desde un punto de vista de aceptación, para el consumo humano.

El proceso de fraccionamiento vegetal produce un material oscuro (color verde), con un olor notorio. El olor puede reducirse mediante la selección vegetal; sin embargo, no se puede eliminar. El color no puede mejorar y tan solo puede mejorarse mediante la adición de agentes reductores (Bray, 1977).

Descripción del concentrado de proteína foliar extractivo.

El concentrado de proteína foliar extractivo es el concentrado proteico del que se han eliminado por extracción el color y el olor. Considerando que el color del concentrado procede de dos fuentes ; primera, de los pigmentos clorofílicos y carotenoides , y segundo, de los taninos producidos por oxidación de los polifenoles naturales, es preciso recurrir a procedimientos diversos para su extracción ó eliminación.

La fuente del olor es más difícil de determinar, pero puede relacionarse con varios componentes presentes en la fracción lipídica , incluyendo ciertos polifenoles, y la degradación oxidativa de productos y ácidos grasos insaturados.

Bray (1977), en su trabajo indicó que la superación de los problemas de aceptabilidad causados por el color y sabor, se pueden eliminar mediante una extracción por disolventes. Así, los disolventes pueden producir un producto más suave y con un color más claro.

Los trabajos más avanzados en el proceso de extracción por disolventes son los realizados por Inereti (1976), indicados en el trabajo de Bray (1977), y en ellos los disolventes acetónicos parecen ser los mejores para obtener un color más claro. En este mismo sentido, Shah (1971) había ya señalado lo expuesto posteriormente por Inereti (1976). Estos tratamientos, además del color, mejoran también el olor y textura, pudiéndose concluir que la extracción por disolventes produce un producto aceptable, de color cercano al blanco.

Mediante este sistema, el problema del color, olor, textura, etc., puede superarse y aumentar las posibilidades de conservación al arrastrarse por los disolventes productos negativos y perjudiciales para su almacenamiento.

La extracción por disolventes produce asimismo una ligera mejoría en la calidad nutricional del concen-

trado protéico foliar, en especial al destruir los enlaces que unen a los taninos con la proteína. Ya en este sentido, hemos mencionado anteriormente lo expuesto por Buchanan (1969), quien determinó el aumento de la digestibilidad de la proteína foliar al arrastrarse la fracción lipídica.

Pero la gran objeción de la extracción por disolventes, es su elevado coste (Bray, 1977). En la actualidad, se ha sugerido la comercialización por separado de varios componentes lipídicos existentes en los extractos de proteína foliar, como son la clorofila, xantofilas y b-carotenos, pudiendo así pagar la operación de extracción. Sin embargo, esto no es posible en la actualidad, al ser difícil recoger los carotenos sin deteriorarse, así como no existe actualmente un mercado adecuado para la clorofila. También Bray (1977), considera que con tan solo la clorofila que podría obtenerse de la extracción de 300 Tm de concentrado de proteína foliar, se cubrirían las necesidades anuales de clorofila en el mundo.

En resumen, la extracción por disolventes soluciona el olor y color, pero no mejora substancialmente la calidad nutricional del producto.

Descripción de proteína foliar fraccionada o separada/aislada.

Es este un producto de textura blanda, color blanco, alto valor nutricional y que compite con los alimentos de mayor calidad (Bray, 1977). Sin embargo, su utilización está supeditada a varios factores económicos.

En líneas generales, este proceso se basa en el fraccionamiento del coágulo en dos partes, una cloroplástica y otra citoplasmática. La fracción cloroplástica contiene alrededor del 40% de proteína y el total del contenido en xantofilas. Es un producto sustituable para la alimentación de avicultura y la fracción llamada proteína blanca (fracción citoplasmática) se usa en alimentación humana.

En resumen, con los conocimientos actuales y siguiendo lo expuesto por Bray en su informe, publicado en 1977, la separación cloroplástica da un producto de mejor color, olor y textura. Así la separación de la fracción con menor digestibilidad (fracción cloroplástica) produce un producto de mejor calidad nutricional. Las diferencias nutricionales, expresadas en PER, entre

los diferentes tipos de productos de concentrados de proteína foliar para alimentación humana, han sido determinados por Clifford y col., (1975) y se reseñan en la Tabla siguiente:

TABLA XV - Concentrados de proteína foliar

	<u>PER</u>
Proteína blanca fraccionada	2,68
Fracción cloroplástica	0,39
Fracción no fraccionada	1,54
Caseína (referencia)	2,50

Clifford y col., 1975 (de Bray, 1977).

2.11.2. Especies monogástricas

Los concentrados de proteína foliar no fraccionado, han sido estudiados en animales monogástricos, desde Cowlshaw y col. (1965). En la actualidad, su capacidad nutritiva para este tipo de especies ha sido estudiada por Woodham (1971) y posteriormente por Morris (1977). Este último indicó que este producto tan solo tiene como aminoácidos limitantes, la metionina y/o la cistina y que

su inclusión en dietas para cerdos y pollos en altos niveles no producen efectos metabólicos negativos.

Desde un punto de vista económico, los concentrados de proteína foliar pueden ser materias primas sustituibles de otras de importación y con ello susceptibles de la dependencia nutricional de los países europeos en relación a la alimentación de monogástricos.

Jones (1977), indicó que con tan solo el aprovechamiento del 14% de los pastos existentes en Gran Bretaña, y con la extracción del 25% de la proteína existente en las hojas, se puede sustituir la importación de materias primas ricas en proteína, tanto para cerdos como para aves.

2.11.2.1. Animales de laboratorio.

El animal de laboratorio más utilizado en este respecto ha sido la rata. Morris (1977) presentó un resumen muy interesante de las pruebas realizadas en animales de laboratorio, especialmente ratas.

De los datos expuestos por Morris (1977), en su

revisión, destacan los aportados sobre muestras de alfalfa, realizados por Subba Rau y col. (1969), Booth (1971), Hove y col. (1974), Bickoff y col. (1975), Myer y Cheeke (1975).

Tanto en los ensayos de Booth (1971), como en los de Myer y Cheeke (1975), se detecta la metionina como aminoácido limitante. En el ensayo de Booth se indica que los valores PER para concentrados de proteína foliar más metionina son semejantes a los valores de la caseína. Sin embargo, Myer y Cheeke (1975), obtuvieron mejores niveles de crecimiento para las ratas con la suplementación, tanto de metionina como de lisina. En este mismo sentido estos autores también señalaron mejores respuestas en ratas con concentrados de proteína foliar secada en frío, que las obtenidas por temperaturas elevadas, como son los concentrados comerciales PRO-XAN.

TABLA XVI - Resumen de las diferentes pruebas realizadas en ratas con concentrados de proteína foliar.

Fuente PF	Nivel Prot. Dieta	Digest. Verdad. Nitróg.	Valor Biol.	Valor Prot. Neta	PER	Referencia.
<u>Muestras de CPF secadas a temperaturas bajas</u>						
Alfalfa	11 %	-	-	-	1,4	Subba Rau (1969)
Alfalfa	10 %	79-86	-	-	2,1	Booth y col. (1971)
Alfalfa	8 %	82	-	-	1,1	Hove y col. (1974)
Alfalfa	12 %	-	-	-	1,9	Hove y col. (1974)
<u>Muestras de fracciones cloroplásticas y citoplásticas separadas.</u>						
Alfalfa	?	99	-	-	2,1/2,4	Bickoff (1975)
<u>Muestras comerciales PRO-XAN en ratas</u>						
Alfalfa	10 %	-	-	-	1,6	Hove y col. (1974)
Alfalfa	10 %	-	-	-	1,2	Myer y Cheeke (1975)
Alfalfa	10 %	-	-	-	1,6	Myer y Cheeke (1975)

En ratas, Malinow y col. (1977), demostraron la capacidad de las saponinas existentes, tanto en los tallos como en las hojas sin hidrolizar, como sustancias inhibidoras de la absorción del colesterol. Como conclusión de estos resultados, los autores sugieren que la presencia de saponinas en el aparato digestivo humano no supone toxicidad y puede ser aplicable como tratamiento en pacientes con hipercolesteremia.

2.11.2.2. Concentrado de protefna foliar en broilers.

El concentrado de protefna foliar ha sido utilizado de forma exclusiva y a su vez, ha sido investigado primordialmente para la alimentación avícola, por diversos autores como son: Colishaw y col. (1956), Woodham (1965), Carpenter y col. (1952). Las fuentes de protefna han sido diversas, pero principalmente se ha utilizado la alfalfa.

Las saponinas son uno de los factores más deprimentes del consumo de pienso. Sin embargo, recientemente Jones (1975) señala que en la actualidad las alfalfas han sido seleccionadas y su contenido en saponinas es inferior. Pedersen y col. (1972) (ver Tabla XVII), demostraron la existencia de diferencias en el crecimiento de los

pollos sometidos a diferentes variedades de alfalfa, seleccionada según su contenido en saponinas. Estos autores confirmaron como variedad con más bajo contenido en saponinas a la variedad Lahontan y la que aporta mayor contenido en saponinas a la variedad Du Puits (Hanson y col., 1973).

TABLA XVII - Ganancias de peso en pollos (gr.) tomando 10% de harina de alfalfa procedente de diferentes variedades y seleccionadas por la modificación del contenido en saponinas.

Variedad	Contenido en saponinas		
	Bajo	No seleccionado	Alto
Ladak	450 a	461 a	382 b
Lahontan	447 a	465 b	426 a
Du Puits	451 a	381 b	365 b

a) diferente de b) (P 0,05)

Pedersen, 1972 (tomado de Cheeke, 1977).

Morris (1977), también observa que los concentrados de proteína foliar recientemente probados en los últi-

mos ensayos publicados, no han producido efectos negativos, achacándolo al escaso contenido en saponinas de las variedades actuales de alfalfa.

Los ensayos más recientes, sobre concentrados de proteína foliar en broilers, han sido realizados por Kuzmicky y col., en el Western Regional Research Service, Berkeley, California. En el primer ensayo publicado por Kuzmicky (1972), éste señala que se puede incluir hasta 54% de concentrado de proteína foliar en dietas para broilers, con metionina adicionada, sin efectos adversos en crecimiento. Sin embargo, el índice de conversión fué inferior en los niveles más bajos, pero estos efectos se deben al alto contenido en cenizas de la dieta y la consecuente dilución nutritiva de la misma.

Los altos niveles de inclusión de proteína foliar en la dieta producen heces acuosas, las cuales según Kuzmicky (1972), son producto de los niveles de potasio. En niveles del 20% de inclusión no se producen efectos negativos. Las muestras de concentrado de proteína foliar con contenidos en cenizas inferiores al 6%, no presentan problemas debidos al potasio, cuando se incluyen a dietas con el 50% de inclusión de proteína foliar.

Kuzmicky, en un ensayo posterior (1977), incluyó

concentrados de proteína foliar de origen comercial (Pro-Xan) entre niveles de 2,5 a 10%, en dietas para pollos y en tres niveles de energía metabolizable. Los resultados obtenidos no dieron significación estadística y por lo tanto se pueden utilizar a niveles del 10% de inclusión en dietas para broilers.

La valoración energética ha sido realizada mediante ensayos biológicos de recolección total de las heces (Kuzmicky, 1977), obteniéndose resultados que se cifran en 2876 Kcal ME/kg. para broilers.

La disponibilidad de las xantofilas presentes en los concentrados de proteína foliar (Pro-Xan) para broilers, han sido comparados con otras materias primas ricas en xantofilas amarillas por Kuzmicky y Kohler (1977). En general, las xantofilas presentes en el concentrado de proteína foliar parecen tener una disponibilidad superior a las de la alfalfa deshidratada en un 70% y a las de la harina de Marigold (*Tagetes erecta*) en 200%.

2.11.2.3. Concentrado de proteína foliar en gallinas ponedoras.

Los concentrados de proteína foliar son asimismo

perfectamente utilizables para la alimentación de gallinas ponedoras. La calidad nutricional se basa en su contenido proteico y xantofílico.

Los primeros ensayos fueron realizados por Cowlishaw y Eyles (1956), y en ellos los resultados no fueron positivos, al ser las muestras de concentrado de proteína foliar de baja calidad (Morris, 1977).

La utilización de este producto en la actualidad ha vuelto a tener importancia para la alimentación de ponedoras, al ser cada vez más importante la producción de huevos con una tonalidad amarilla superior. En este sentido, Morris (1977) señala que en ensayos no publicados de la Universidad de Reading, la alimentación de aves ponedoras sometidas a niveles de inclusión superiores al 20% no afectan la producción de huevos y cuando el concentrado de proteína foliar sobrepasa la inclusión del 10% en la dieta se produce un huevo con una tonalidad amarillo verdosa.

En el aspecto de la disponibilidad de la pigmentación, comparada con otras materias primas, Kuzmicky y Kohler (1977), señalan tanto para concentrado de proteína foliar secado en frío (laboratorial), como el precedente

de una planta piloto, (método Pro-Xan), una disponibilidad 1.7 veces superior a la alfalfa deshidratada y 3.0 veces superior frente a la harina de Marigold.

2.11.2.4. Concentrado de proteína foliar en cerdos.

El sistema de fraccionamiento produce diversos productos, según la finalidad que se imponga al desarrollo industrial de estos procesos. De entre estos productos, dos se pueden utilizar en alimentación porcina; jugo de la extracción de las hojas y concentrado de proteína foliar.

El jugo de las hojas se utiliza en Gran Bretaña para la alimentación líquida en cerdos, mientras que el concentrado de proteína foliar, ha sido investigado y desarrollada su utilización en los Estados Unidos de América.

El sistema de aplicación británico, tiene un coste de producción inferior al americano, pero debe ser utilizado en explotaciones con producción agrícola y ganadera conjunta.

La primera prueba realizada en cerdos, utilizando proteína extractada de hojas de trigo, por el proceso de

la Estación Tothamsted, fué realizado por Barber y col. (1958). En este ensayo se consideró que el aporte de la proteína en forma húmeda, promovía iguales crecimientos que los aportados por harina de pescado en cerdos entre 23 y 54 kg. de peso vivo.

El jugo de proteína foliar y su valor nutritivo en cerdos, fué estudiado por Thorbeck (1975). Ahora bien, este autor señaló la dificultad de suplementar dietas de cebada para los cerdos jóvenes con tan solo el jugo de hojas. Por otro lado, es posible suplementar las mismas dietas a base de cebada con jugo de hojas cuando los cerdos pasan de los 55 kgs. de peso vivo.

Los concentrados de proteína foliar producen unos crecimientos adecuados, tanto en cerdos en crecimiento como en acabado, (Cheeke, 1975), (ver Tabla XVIII). Los niveles de inclusión alcanzados sin producir problemas, han sido del 24% de CPF con total sustitución de la harina de soja.

TABLA XVIII - Efecto de la sustitución de CPF (alfalfa) por harina de soja en dietas a base de cebada para cerdos en crecimiento y acabado.

CPF, %	Peso medio/día Kgrs.	Indice de conversión
0	1,00	3,41
5	0,90	2,96
10	1,07	3,16
15	0,91	3,42
20	0,88	3,29
24	0,99	3,47

(Cheeke, 1975).

En un ensayo posterior (Cheeke y col., 1977), señalaron efectos negativos en el consumo de cerdos con un peso inicial de 18 kg. de peso vivo, por la inclusión en las dietas de concentrado de proteína foliar tipo Pro-Xan. Según los autores la causa fué un defectuoso sistema de producción, el cual afectaba la disponibilidad de la lisina. También es de destacar que los concentrados de proteína foliar secados en frío, no producían efectos negativos.

La contraposición de los resultados, aportados por Cheeke y col., se deben también a que en la primera dieta se administraba en forma granulada y en la segunda en forma de harina.

Los componentes determinantes de los efectos negativos en la alimentación de cerdos, son las saponinas. En este sentido, Cheeke y col. (1977), y Stone (1976), aportan datos sobre las mejoras aportadas en el crecimiento de los cerdos y consumo de pienso, con alfalfas seleccionadas por su bajo contenido en saponinas (ver Tablas XIX y XX).

TABLA XIX - Desarrollo de cerdos jóvenes alimentados con alto y bajo contenido en saponinas.

Tratamiento	Ganancias diarias (gr.)	Consumo diario (kg.)
Control	854 a	2,40
Bajo contenido	750 a	2,40
Alto contenido	613 b	2,18

a) diferente de b) (P 0.05).
(Cheeke, 1977)

TABLA XX - Desarrollo de cerdos consumiendo alfalfa convencional y alfalfa de bajo contenido en saponinas

	Control	Bajo contenido en saponinas			
		Convencional	15%	30%	15%
Ganancias de peso (gr.)	554	490	459	545	440
Consumo (kg.)	1,16	1,10	1,16	1,17	1,06

(Stone y col., 1976)

De las tablas anteriores, se puede concluir que la mejora se debe al descenso del contenido en saponinas, aumentando el nivel de consumo y por tanto obteniéndose un mayor aporte nutricional.

Otro aspecto negativo, causado por los concentrados de proteína foliar, puede ser la fotosensibilización detectada en ratas por Lohrey (1974); sin embargo, los síntomas en la piel detallados por Cheeke (1975), no fueron considerados por no responder a la privación del con-

sumo de estas protefinas.

Morris (1977), estableció que la fotosensibilización producida por concentrados de protefina foliar (alfalfa) son difíciles de producir, primero por el nivel de inclusión y segundo por las condiciones actuales de los alojamientos y manejo de los cerdos, los cuales no reciben la luz solar directa.

3. MATERIALES Y METODOS

MATERIALES Y METODOS

3.1. Centros de trabajo

Este trabajo experimental ha sido realizado con la colaboración de diversos organismos oficiales y empresas privadas, debido a la diversidad de técnicas empleadas y a la dificultad de disponer de todo el equipo necesario para el correcto desarrollo del mismo.

Los ensayos biológicos de campo, se han efectuado en las instalaciones que a tal efecto posee el Departamento de Biología y Bioquímica de la Universidad Politécnica de Barcelona, en el centro experimental de la finca "Mas Sedó" de Reus (Tarragona).

Los piensos experimentales del ensayo B-2 se fabricaron en la factoría de la Cooperativa Agropecuaria de Guissona.

Los piensos de los ensayos B-1, G-1, G-2 y G-3, se fabricaron con una mezcladora Humsa de 200 kgr., tipo hormigonera, en las instalaciones del "Mas Sedó".

Las materias primas utilizadas, así como las dietas experimentales, se analizaron en los laboratorios del Departamento de Biología y Bioquímica de la Universidad Politécnica de Barcelona, o en los de Piensos Hens, S.A. y Cooperativa Comarcal de Avicultura de Reus.

La determinación de los aminoácidos correspondientes al concentrado de proteína foliar, se efectuaron en los laboratorios del Consejo Superior de Investigaciones Científicas, "Juan de la Cierva" de Barcelona.

Los análisis relativos a la fracción fibra, contenido xantofílico e hidratos de carbono, así como la determinación de la energía verdadera metabolizable, se efectuaron en los laboratorios de Piensos Hens, S.A. de Barcelona.

El estudio, clasificación y valoración de las canales de pollo y pigmentación del huevo, fueron realizados por un panel de expertos pertenecientes al matadero y centro de clasificación de huevos de la Cooperativa Comarcal de Avicultura de Reus.

Finalmente, todos los trabajos de revisión bibliográfica, programación y diseño de las experiencias,

análisis estadístico de resultados, se realizaron en el Departamento de Biología y Bioquímica de la Universidad Politécnica de Barcelona.

3.2. Animales experimentales

Broilers

Los pollos de carne utilizados, pertenecían a la estirpe comercial Ross II y se recibían en la granja a un día de edad, con un peso vivo aproximado de 39-41 gramos por ave. Para el ensayo B-1, las aves, sin sexar y en número de 450, procedían de la Compañía Avícola del Camp, S.A. de Reus (Tarragona), y de la Cooperativa Comarcal de Avicultura de Reus, para el ensayo B-2, con un total de 2.450 pollos machos.

Ponedoras

Las aves utilizadas pertenecían a la variedad Leghorn blanca. En el ensayo G-1 las aves eran de la estirpe comercial Shaver Starcross 288 y procedían de la empresa Granja Banús de Reus (Tarragona). En los ensayos G-2 y G-3, las aves eran de la estirpe comercial Babcock, procedentes de la Cooperativa Comarcal de Avi-

cultura. Tanto en un caso como en el otro, las aves llegaron al centro experimental con cuatro meses de edad, y consumieron hasta el comienzo de la experiencia piensos comerciales.

Pollos adultos utilizados en los ensayos de determinación de la energía verdadera metabolizable.

Los pollos usados fueron machos Leghorn de la estirpe comercial Shaver Starcross, procedentes de Granja Vila, S.A. de Reus y localizados en el laboratorio experimental de Pienso Hens, S.A. de Barcelona.

Estos pollos se introdujeron en el laboratorio con una edad aproximada de cinco meses y con un peso medio de 1,2 kg. de media. Una vez aclimatados fueron utilizados para determinar la energía metabolizable de diversas materias primas, con un peso aproximado de 1,750 \pm 0,200 gr. y una edad entre siete y trece meses de vida.

3.3. Condiciones generales

3.3.1. Alojamiento y equipo experimental

Broilers

Los animales pertenecientes al ensayo B-1 se alojaron en la nave nº 4 de la Granja Experimental, con 54 jaulas de baterías metálicas de tres pisos, con seis departamentos por piso de 1 x 0,5 m. El número de animales por jaula fué de ocho, con una densidad de 16 por m². Los comederos utilizados eran frontales y desmontables y los bebederos automáticos del tipo lengüeta.

En el ensayo B-2 se alojaron las aves en la nave nº 1 de la Granja Experimental "Mas Sedó", en 24 departamentos separados, sobre suelo de viruta y con un total de 102 pollos por departamento, con una densidad de 12 pollos por m². Durante los primeros quince días los comederos fueron de tipo canal, los bebederos individuales. A partir de los quince días, los comederos eran de tipo tolva y los bebederos de nivel constante.

Ponedoras

Las aves destinadas al ensayo G-1 y G-2 se alojaron en la nave nº 8 de la Granja Experimental, nave con luz y ventilación controlada. Se utilizaron baterías de

tipo California de dos pisos, con dimensiones por hueco de 0,4 x 0,4 metros. En el ensayo G-3 se utilizó la nave nº 9 de la Granja Experimental, siendo las condiciones de las aves y de la nave idénticas a las de los ensayos anteriores. Los comederos eran individuales para los ensayos G-1 y G-2, y para el ensayo G-3 los comederos también eran individuales por replica, constando cada réplica de cinco jaulas conjuntas. Los bebederos eran tipo canal para ambos ensayos.

El número de aves, por tanto, fué de dos en los ensayos G-1 y G-3, mientras que en el ensayo G-2 fué solamente de un ave.

Pollos Leghorn utilizados para la E.V.M.

Los pollos utilizados en el ensayo de energía verdadera metabolizable, se ubicaron en baterías especiales. Estas baterías tenían una altura de 0,55 por 0,50 de profundidad, comedero individual y bebedero automático de lengüeta y recogida individual de heces en bandejas construídas a tal efecto.

3.3.2. Programas higio sanitarios

Antes del inicio de cada ensayo experimental se

efectuaron trabajos rutinarios de limpieza, desinfección, desinsectación y desratización y durante estos se aplicaron los tratamientos profilácticos que indicamos a continuación.

Broilers

En todos los ensayos de broilers, durante los tres primeros días de vida, se suministró 1 ml. de Clo-ranfenicollevogiro al 10% (Lafi) y 50 gr. de azúcar por litro de agua de bebida.

En el ensayo B-1 se realizó el siguiente programa:

a) Vacunación combinada en el ojo, contra la enfermedad de Newcastle (cepa Hitchner B1) y bronquitis infecciosa (cepa Ha20) de Laboratorios Duphar, S.A., a los 10-12 días de edad.

b) Tratamiento post-vacunal, durante tres días con Hidroclortadona-Ts (Laboratorios Hipra), en dosis de 0,5 cc. por litro de agua de bebida.

c) Revacunación a los 25 y 48 días de vida contra la enfermedad de Newcastle, con virus cepa "E" inac-

tivado con B-propiolactona mediante inyección subcutánea (vacuna Poulvac Layer Plus) de Laboratorios Duphar, S.A.

d) Tratamiento post-vacunal durante dos días con 0,5 cc. de Hidroclortadona-Ts (Laboratorios Hipra), por litro de agua de bebida.

En el ensayo B-2, además de las medidas rutinarias de limpieza y desinfección se procedió a un programa de vacunación contra la enfermedad de Newcastle. Este programa consta de una vacunación con H-20 (Philips-Duphar) en el agua de bebida a los quince días de edad.

En todos los ensayos la salud de las aves durante todos los periodos fué excelente, desde un punto de vista general.

Ponedoras

A las aves utilizadas en los diferentes ensayos se les había aplicado durante la fase de recría, el programa inmunosanitario siguiente:

- 1a. vacunación Newcastle (v.v.) cepa B1 - 7 días de edad
- 2a. " " " " - 3 semanas de edad
- 3a. " " " " - 7 semanas de edad

Vacunación bronquitis, cepa Massachussets - 9 sem. de edad
Vacunación viruela - 1 " " "
4a. vacunación Newcastle (v.m.) en la fase de producción
del 10%.

v.v. = Virus vivo atenuado
v.m. = Virus muerto.

3.3.3. Normas de Manejo

Broilers

Todos los pollos a su entrada a la unidad experimental fueron distribuidos al azar entre los departamentos, mantenidos a una temperatura de 32°C. A partir de los 5-10 días de vida (según época del año de que se trate), solo se suministraba calor por la noche, excepto en condiciones climáticas adversas. A partir de los 15-10 días generalmente se suprimía la calefacción.

En el ensayo B-1 la calefacción se obtenía por medio de pantallas de butano y por el calor de las bombillas. Esta iluminación constante se mantuvo durante la primera semana.

En el ensayo B-2 la iluminación se suministró

con bombillas de 40 wátios, situadas a 2,2 metros sobre el nivel del suelo, manteniéndose esta iluminación durante las 24 horas del día los 12 primeros días de vida, pasando a 14 horas diarias a partir de esa edad.

Ponedoras

Las aves de puesta, desde su entrada y hasta el inicio de la producción, se alimentaron con pienso comercial de recría. Al inicio de la puesta se les suministró pienso de ponedoras mezclado con el de recría, en porcentaje de acuerdo al nivel de puesta. Pasándose a la administración total de este último pienso al alcanzar el 15% de puesta.

El sistema de ventilación de la nave era de tipo forzada con extractores, con una capacidad de volumen de aire, desde 3 m³ hasta 10 m³ ave/hora, según época del año.

El programa de luz fué el normal y consistía en ocho horas diarias de luz hasta el inicio del periodo productivo, aumentándose con el nivel de puesta hasta alcanzar el máximo de 15 horas en el índice máximo de puesta.

A partir de aquí se aumentaba quince minutos por semana, hasta alcanzar las 20 horas, que se mantuvieron hasta el final de la producción.

3.4. Alimentación y piensos experimentales

Los piensos experimentales fueron formulados según técnicas de programación lineal, de acuerdo con las características propias del tipo de dieta requerida. La inclusión del concentrado de proteína foliar, por regla general, sustituye a la soja 47% en todas las fórmulas de los distintos tratamientos de los diferentes ensayos.

En todos los ensayos, tanto de broilers como de ponedoras, al estar las aves en la fase máxima de producción, se suministró el pienso "ad-libitum".

Broilers

En todos los ensayos se utilizó un programa de alimentación por fases, de acuerdo con la siguiente pauta:

Ensayo B-1 - Pienso iniciación: desde el nacimiento hasta los quince días en forma de harina.

Pienso crecimiento-acabado: desde los quin-

ce días hasta el final del ensayo.

Ensayo B-2 - Pienso iniciación: desde el inicio hasta 21 días en forma de harina.

Pienso crecimiento-acabado: desde los 21 días hasta el final del ensayo, tanto en harina como en forma granulada.

Ponedoras

La totalidad de las aves consumieron el pienso "ad libitum".

En el ensayo G-2 las aves consumieron inicialmente un pienso pre-experimental sin contenido con aporte de xantofilas.

En los demás ensayos el pre-experimental se realizó mediante pienso comercial.

Fabricación de los piensos

La fabricación de los distintos tipos de pienso, fué controlada personalmente, con la finalidad de evitar

en lo posible contaminación o mezclas con otros tipos de pienso.

Los piensos para aves ponedoras y B-1 fueron realizados personalmente en la Estación Experimental, utilizando una mezcladora Humso, modelo HH-200 con una capacidad útil de 50 kgr.

Las materias primas utilizadas a lo largo de un ensayo de broilers pertenecían a una misma partida, y en los ensayos de ponedoras eran de una calidad muy parecida.

La preparación de las muestras utilizadas en el ensayo para determinar la energía verdadera metabolizable se realizó en el mismo laboratorio experimental y con una dosificación hasta las décimas de gramo.

Todas las muestras de concentrado de proteína foliar, procedían de la planta que la firma Aproalfa, S.A. tiene instalada en Suchs, Lérida, y fueron obtenidas por el sistema desarrollado por Rivadulla (1978) en España.

3.5. Controles experimentales

En todas las experiencias se realizaron controles de peso, consumo y cálculo de los índices de conversión,

tanto parciales como acumulados, siempre que se realizaba un cambio de pienso, o se había pre-establecido como fecha control.

Los pesajes de los animales se efectuaron a una misma hora, sin estar en ayunas y siempre bajo las mismas condiciones. Los controles de cada experiencia se detallan al estudiar por separado cada ensayo.

Broilers

En pollos, además de los controles generales, se realizaron controles de coloración, tanto de tarsos como de piel, en el momento del sacrificio y en las fechas señaladas como control.

En el ensayo B-1 y durante un periodo de una semana, se realizó un control cada 48 horas sobre la palatabilidad de las diferentes dietas, en tres lotes de seis pollos cada uno.

Ponedoras

En los ensayos de ponedoras se realizaron contro-

les periódicos sobre el tamaño y calidad interna del huevo (color de la yema, espesor de la cáscara y altura de albumen). La periodicidad de estos controles se detalla en cada ensayo por separado.

En los ensayos para la determinación de la energía verdadera metabolizable, se realizó un riguroso control del peso de las heces excretadas por las aves utilizadas, durante periodos de tiempo de diferente duración.

3.6. Diseños experimentales y análisis estadísticos

Antes de la realización de los ensayos y teniendo en consideración las posibilidades disponibles y sus objetivos, se realizó un diseño experimental en cada caso.

Después de la recogida de datos, se realizaron los correspondientes análisis de varianza, caso de existir (con una probabilidad de error de 0,05 a 0,01), empleándose los métodos de comparación múltiple de medias de Tukey y Newman-Keules, y cuando solo existían dos tratamientos la T de Student, según indican Snedecor y Cochran, (1957).

3.7. Técnicas analíticas

3.7.1. Piensos experimentales

Las técnicas utilizadas para los análisis de los principios inmediatos (proteína, grasa, fibra, etc.), se realizaron según los métodos oficiales de la A.O.A.C. (1965). Antes de realizar el análisis, las muestras se homogeneizaban por un molinillo de martillos, Cullotti DFH-48, provisto de parrilla de 0,5 mm de luz.

Determinación aminoacídica

Los aminoácidos presentes en las proteínas de los concentrados de proteína foliar y muestras de alfalfa de campo, fueron determinados cuantitativamente mediante la técnica de separación cromatográfica por intercambio iónico, utilizando un autoanalizador Beekman para cromatografía líquida en columna, con registrador e integrador acoplado al mismo.

La separación de los aminoácidos se realizaba en una columna única, regulada para una temperatura de 45 a 55 °C, rellena de una resina sintética, tipo sulfónico.

La elución se efectuaba mediante un sistema de tampones citrato, de pH 3,25, 4,20 y 6,40, mezclándose los eluidos a su salida con el reactivo ninhidrina.

Esta mezcla circulaba durante 15 minutos a 100°C por un tubo capilar, desarrollándose de esta forma la coloración típica de la mezcla.

La muestra, una vez coloreada, pasaba a través de las cubetas de un colorímetro de flujo, midiéndose la absorción a 570 nm.

Determinación de la energía bruta

La energía bruta de los concentrados de proteína foliar y de las heces fue determinada mediante la valoración del calor de combustión, por medio de la aplicación de un calorímetro adiabático IKA, modelo C-400.

Estos calorímetros adiabáticos se basan en la transmisión del poder calorífico producido por la combustión de la materia prima a través de compartimientos con agua, la cual cambia de temperatura y esta es indicada en un termómetro el cual valora la capacidad energética mediante la combustión previa de materias primas conocidas como el benzoico.

3.7.2. Determinación de la calidad en el huevo.

Calidad externa (dureza de la cáscara)

Para la determinación de la dureza de la cáscara del huevo se eligió un método indirecto, como es el espe-

sor de la cáscara, habida cuenta que solo se requiere un micrómetro, que refleja la consistencia de la cáscara (Wells, 1968).

El grosor de la cáscara fué determinado con un micrómetro de marca "Ames", tomándose el espesor de dos muestras de cáscara, previamente separadas de sus membranas y tomándose las muestras de puntos opuestos en el diámetro central del huevo. Los resultados se expresaron en mm.

Calidad interna (consistencia del albumen)

La firmeza y consistencia del albumen, es una de las características de gran importancia desde un punto de vista comercial. Para estudiar este parámetro de calidad se utilizó el método de las Unidades Haugh, ya que a nuestro parecer es el más correcto.

El sistema de Unidades Haugh, aportado en 1937, relaciona la altura del albumen denso con el peso del huevo según la fórmula siguiente:

$$U.H. = \frac{\text{Log. } (H - g (30 w^{0,37} - 100 \pm 1,9))}{100}$$

H = altura del albumen denso

w = peso del huevo

g = aceleración de la gravedad = 981 cm/seg²

El proceso del estudio se realiza pesando el huevo, posteriormente se rompe la cáscara y se situa sobre un cristal perfectamente nivelado, a continuación se mide la altura del albumen denso que rodea la yema con un micrómetro apoyado sobre el trípode, de marca "Ames". Los puntos que se deben analizar son dos diametralmente opuestos y equidistantes de la situación de las chalazas.

Con los datos de peso y altura, y con la posibilidad de utilización de tablas en Unidades Haugh, se obtiene el valor.

Coloración de la yema del huevo

En todos los ensayos de gallinas ponedoras se realizó una valoración de la tonalidad amarilla en todos los controles y fechas determinadas, mediante la contrastación de muestras de huevos con el abanico Roche.

En el ensayo G-2 se realizó la valoración del contenido de xantofilas en la yema del huevo, siguiendo las pautas expuestas por A.O.A.C. (1965).

3.7.3. Determinación de la pigmentación de los tarsos

En todos los ensayos de broilers se realizaron controles de pigmentación de los tarsos contrastándolos con el abanico Roche, llevándose a cabo con todos los controles y en el momento del sacrificio de los animales en el matadero.

En el ensayo B-2 se tomaron muestras de todas las réplicas para determinar el contenido en xantofilas en la grasa subcutánea acumulada en los tarsos mediante el sistema aplicado por la A.O.A.C. (1965).

Las lecturas correspondientes a la determinación de xantofilas presentes en los piensos y muestras experimentales en los diversos ensayos, se efectuó en un espectrofotómetro Beeckman, modelo DU-2.

3.7.4. Determinación de la energía verdadera metabolizable del concentrado de proteína foliar.

La valoración de la energía metabolizable de los concentrados de proteína foliar se llevó a cabo mediante la técnica descrita por Sibbald (1975), basada en la valoración de la energía de la materia prima, asimilada por el organismo durante el proceso de digestión, tomando en consideración la energía de origen endógeno y la energía excretada en la orina.

Concepto de energía verdadera metabolizable

Los valores de energía metabolizable, ampliamente usados en formulación de piensos para avicultura, corresponden a la energía metabolizable aparente (E.M.A.). Desde un punto de vista energético, esta unidad no es realmente correcta, ya que en las heces se encuentra no solo energía procedente de materias no realmente metabolizadas, sino también productos metabólicos derivados de sustancias endógenas, como enzimas digestivas, células de la pared intestinal, etc. Al conjunto de la energía aportada por estos constituyentes, es a lo que en términos energéticos se denomina energía metabólica fecal (E.M.F.). El contenido de la orina, que representa aquella parte de los

productos que pasan directamente a la orina, constituyen en términos energéticos la energía urinaria. Así, Sibbald (1975) considera que la energía verdadera metabolizable es $EVM = EMA + EF + EV$.

que surge de:

$EMA = \text{energía del pienso} - \text{energía excretada.}$

$EVM = \text{energía pienso} - (\text{energía excretada} - (EF + EV)).$

$EVM = EMA + EF + EV$

Aunque puede considerarse que la correlación es pequeña, la valoración es importante y reduce la variabilidad de la energía metabolizable aparente.

Las ventajas de este sistema, según Sibbald (1977 a) son las siguientes:

- a) El ensayo se puede completar en aproximadamente 60 horas, en contraste con las seis semanas en los ensayos de energía metabolizable aparente.
- b) Las aves se pueden usar para diferentes ensa-

yos; algunas han sido utilizadas más de cuarenta veces sin problemas de salud.

c) El inicio de un ensayo se puede realizar sin grandes preparativos.

d) El contenido de material a probar es pequeño, y por ello el coste de las muestras y el control de la calidad se minimiza.

e) El coste de las jaulas para los pollos es inferior al de las baterías para el otro tipo de ensayo biológico.

f) El trabajo necesario es escaso.

g) El coste de la obtención de la energía verdadera metabolizable es inferior al de los ensayos de energía metabolizable aparente.

Podemos confirmar que todas las ventajas descritas por Sibbald (1977a) han sido corroboradas por nosotros, y que las 60 horas son mas consecuencia de la capacidad del laboratorio que del propio sistema.

Desarrollo de los ensayos de energía verdadera metabolizable.

Primero, la totalidad de las aves se someten a un período de ayuno de 18 a 24 horas de duración (Sibbald 1976d). Como norma hemos utilizado 24 horas, aunque Sibbald indica que los valores no se ven afectados cuando se realizan con periodos de ayuno previos a la alimentación forzada de más de 48 horas (Shires y col., 1979).

Posteriormente al período de ayuno, se seleccionan las aves que han de ser alimentadas forzadamente, así como las aves que seguirán manteniéndose en ayunas, de las cuales obtenemos las heces para la determinación de la energía endógena.

El último paso es la recolección de las heces, tanto de las aves alimentadas como de las aves en ayunas. Esta operación se lleva a cabo después de 24 horas, aunque también se puede realizar con periodos de más de 59 horas, sin encontrar datos diferentes (Sibbald, 1978).

Animales y equipo experimental utilizado.

Se utilizaron pollos machos Leghorn, de estirpe comercial Shaver - Starcross, con un peso de 1.750 ± 150 . La utilización de este tipo de animales la recomienda

Sibbald (1977a), por ser animales con unas necesidades de mantenimiento muy regulares, baja mortalidad y gran capacidad de resistencia a los períodos de ayuno.

Instalaciones y manejo

Las aves se alojaron en baterías especiales, con recogedor de heces individual de acero y con un diseño estudiado para impedir la pérdida de líquidos y de heces. Cada jaula tenía comedero individual y bebedero de tipo lengüeta. Las dimensiones de la jaula era de 0,5 m. de alto por 0,4 de profundidad.

Para la alimentación forzada se utilizó un embudo y unos tubos de plástico flexibles, con un diámetro de 8 mm. y una longitud de 25/30 cm. Este tipo de embudo y tubos se aplican al esófago de las aves hasta alcanzar el buche.

La materia prima utilizada se molía finamente antes de pesarla y se introducía en el ave con una dilución de agua. Posteriormente a la alimentación forzada, se recoge el recipiente con los restos de materia prima no utilizada, y con la tara del recipiente se obtiene una

valoración de la materia prima suministrada.

Tanto la valoración de la materia prima, como la de las heces de los animales en ayunas y de las aves en alimentación forzada, se realiza mediante un calorímetro adiabático. Previa a la valoración energética de las heces, se realiza un secado a temperatura constante de 80°C, en una estufa, durante un periodo de 24 horas, obteniéndose unas heces a una humedad constante.

Una vez valorada la energía excretada por las aves alimentadas y por las aves en ayunas, se obtiene el valor de la energía verdadera metabolizable, como hemos indicado en la explicación del concepto de este valor.

Una de las necesidades que precisa esta técnica, es la precisión en el pesado de la materia prima suministrada, así como de las heces excretadas, tanto en lo referente a las aves en alimentación forzada, como a las aves en ayunas.

Sibbald (1977d), señaló que el nivel de alimento forzado es importante, ya que cuando mayor es el volumen, es menor el error standard que se produce, debido a que influye cada vez en menor grado las heces excreta-

das por el animal en forma endógena. Sin embargo, Sibbald recomienda un nivel intermedio, debido a los vómitos o regurgitaciones que se producen a dosis elevadas de alimento forzado.

Por ello hemos aplicado niveles similares a los recomendados por Sibbald (1977d), registrando un escaso nivel de vómitos o regurgitaciones en los pollos bajo el régimen de alimentación forzada.

4. ENSAYOS EXPERIMENTALES

ENSAYOS EXPERIMENTALES

4.1. Introducción

La finalidad de los ensayos realizados en broilers y ponedoras con concentrados de proteína foliar, ha sido valorar sus posibles cualidades nutricionales, tanto desde un punto de vista proteico como de su capacidad energética.

Otro aspecto considerado, ha sido el estudio de su capacidad pigmentante y en este sentido han sido proyectadas diversas partes de los ensayos para determinar su capacidad en comparación con otro tipo de materias primas, ricas en los mismos conceptos de pigmentación.

Otro objetivo que se pone en evidencia en los ensayos realizados, es la determinación o detección de factores depresores del crecimiento, o bien, de factores tóxicos y privadores del consumo.

4.2. Ensayos en broilers

Se realizaron un total de dos ensayos, (B-1 y

B-2), tratando de determinar los efectos producidos por la inclusión de distintos niveles de concentrado de proteína foliar sobre los parámetros productivos, así como la posibilidad de determinar la presencia de efectos negativos presentes en el producto a estudiar. Asimismo es de destacar la valoración de la pigmentación realizada en los dos ensayos.

4.2.1. Ensayo B-1

Objetivos

El objetivo de este ensayo fué valorar el comportamiento del concentrado de proteína foliar, en forma atomizada, como fuente de proteína en raciones para broilers en crecimiento, y observar sus efectos sobre ganancia de peso, consumo de alimento, e índices de conversión.

El ensayo se inició el día 3 de Diciembre de 1977 y finalizó el 12 de Enero de 1978.

Condiciones del ensayo

La experiencia se realizó en la nave número 4 de la Estación Experimental de Reus.

Se utilizaron un total de 450 pollitos broiler machos, sexados, de un día de edad a su llegada a la Estación Experimental, pertenecientes a la estirpe comercial Ross I. Fueron alojados en baterías metálicas de tres pisos, con un total de 54 jaulas de 0,5 x 1,0 m. y a razón de 8 pollos por jaula. La nave donde se realizó la experiencia dispone de calefacción ambiental mediante pantallas de butano, ventilación natural y luz artificial y natural. Cada jaula dispone, asimismo, de foco calorífico individual, comederos individuales y bebederos automáticos de cazoleta.

Después de un período pre-experimental de dos semanas, los pollitos fueron pesados y distribuidos entre cinco tratamientos experimentales, cada uno con 10 réplicas (jaulas) de 8 pollos cada una.

Las raciones experimentales fueron formuladas con unas necesidades mínimas en aminoácidos esenciales reducidas en un 15%, en relación al lote testigo, manteniéndose todas las dietas con el mismo nivel energético. La finalidad que se pretendía con la reducción de los aminoácidos en las dietas concentradas de proteína foliar, era determinar la posible mayor eficacia por parte de la proteína de los concentrados de proteína foliar.

La incorporación del concentrado de proteína foliar en los tratamientos, T-3, T-4 y T-5, se efectuó a expensas de harina de soja 48%, controlando que todos los niveles mínimos de aminoácidos quedaran debidamente cubiertos.

Diseño experimental

Se utilizó un diseño simple jerárquico, con cinco tratamientos y con diez réplicas por tratamiento. Durante todo el ensayo, se empleó un solo tipo de dietas (pienso de crecimiento), cuya composición y valor nutritivo para los distintos tratamientos se presenta en las Tablas Nos. 1 a 4.

El pienso se administró ad libitum en forma de harina y con agua a voluntad.

Tratamientos experimentales

- T-1 - Control positivo, pienso base con un 21% de P.B.
- T-2 - Control negativo, pienso base con un 18% de P.B.
- T-3 - Pienso base con un 18% de P.B. incluyendo un 2,5% de concentrado de proteína foliar.

- T-4 - Pienso base con un 18% de P.B. incluyendo un 5% de concentrado de protefna foliar.
- T-5 - Pienso base con un 18% de P.B. incluyendo un 7,5% de concentrado de protefna foliar.

Controles experimentales

Se pesaron los pollos por réplicas y asimismo el consumo de pienso a los 21, 35 y 55 días de edad. La pigmentación del tarso se controló por réplica en los días 35, 42 y 55. También se estudió la pigmentación de la piel en el momento del sacrificio.

A partir de estos datos se calcularon los índices de conversión, tanto parciales como acumulados. Todos estos datos se encuentran reflejados en las Tablas Nos. 5 a 8.

Análisis estadístico

Los datos correspondientes a incrementos de peso, peso vivo, consumo de pienso e índices de conversión, tanto parciales como acumulados, obtenidos en el período pre-experimental, así como durante el período experimen-

tal, fueron sometidos a análisis de varianza. Si las diferencias eran significativas ($P < 0.05$) se les sometía al test de comparación múltiple de medias de Newman Keules. También se analizaron estadísticamente los datos obtenidos en los controles de pigmentación de los tarsos.

Discusión de los resultados

Los resultados referentes a las ganancias de peso vivo, consumo de pienso e índices de conversión acumulados se presentan en la Tabla Nº 5.

Puede observarse que los pollos de los tratamientos que incluían distintos porcentajes de concentrado de proteína foliar, así como los del control negativo (T-2), muestran menores ganancias de peso, que los del control positivo durante la primera semana de la prueba, menores ganancias por otro lado lógicas, dado el menor nivel teórico en proteína del pienso de estos tratamientos. El consumo de pienso de los lotes con concentrados de proteína foliar durante la primera semana, es sin embargo superior al del control, lo que no concuerda como puede observarse (Tabla 5), con el comportamiento de los

mismos lotes a lo largo de las sucesivas fases del ensayo.

Este mayor consumo se atribuye a que en esta primera semana, los pollos se alimentaban de comederos pequeños de la primera edad, situados en el interior de las jaulas, permitiéndoles escarbar más para escoger partículas de su elección y desperdiciar más pienso. De hecho, se observó que los pollos de las jaulas asignadas a los tratamientos 3, 4 y 5 tiraban más pienso que los otros.

A medida que avanzaba la prueba, a partir de los 33 días, se hizo patente que los lotes recibiendo concentrado de proteína foliar mostraban cifras menores de ingestión de pienso que redundaba en menores ganancias. De esta forma, al final del período experimental, las aves de los tratamientos 3, 4 y 5 habían consumido menos pienso (un 4%, 2% y 6% respectivamente) respecto al control, alcanzando menores incrementos de peso (7%, 5% y 7% respectivamente), siendo estas diferencias significativas ($P < 0,01$). En lo que hace referencia a los índices de conversión no se observaron diferencias entre los distintos tratamientos.

En la Tabla Nº 6 se exponen los pesos vivos en cada uno de los períodos considerados control. En ellos

se puede observar que tan solo se producen diferencias al final del período experimental. Asimismo, en la Tabla Nº 7, se muestran los datos correspondientes a los resultados parciales.

Es de notar, en cuanto a la pigmentación de los pollos, que el efecto aportado por el aumento del contenido en xantofilas existentes, al aumentar la inclusión del concentrado de proteína foliar fué altamente significativo, hasta el nivel del 5%. Por encima de este nivel no se obtenían ya aumentos significativos de la pigmentación. Los resultados de pigmentación se encuentran expuestos en la Tabla Nº 8.

Comentarios y prueba adicional de palatabilidad en el ensayo B-1.

Uno de los hechos a destacar en este ensayo, es la reducción de consumo de pienso experimentado por los lotes que recibían concentrados de proteína foliar en su ración.

A fin de complementar los datos obtenidos, se realizó paralelamente a la experiencia, una prueba de

palatabilidad de las dietas 2, 3, 4 y 5 (isoprotéicas e isoenergéticas). Los datos de esta prueba se encuentran en la siguiente Tabla y vienen a confirmar los datos obtenidos y ya expuestos.

TABLA XXI - Prueba de palatabilidad (1)

	§ Concentrado de proteína foliar	§ Consumo total (2)
Pienso 2	0	41,2
Pienso 3	2,5	21,1
Pienso 4	5,0	20,7
Pienso 5	7,5	17,0
		<hr/> 100,0

(1) Se utilizaron 3 jaulas de 3 pollos cada una, disponiendo cada jaula de 4 comederos, uno para cada tipo de pienso.

(2) Medias de 3 controles. Los controles se realizaban cada 72 horas. El periodo experimental constó de 9 días, entre los 35 y los 49 días de edad.

Parte de la explicación de esta reducción en consumo, se cree pueda deberse al efecto del tamaño de partícula del concentrado de proteína foliar sobre el consumo voluntario. Partículas demasiado finas tienden a provocar una disminución en el consumo.

Por otro lado, el comportamiento general del concentrado de proteína foliar, en términos del estado sanitario de los animales fué satisfactorio, no presentándose en ningún momento problemas que indicaran efecto tóxico alguno.

4.2.2. Ensayo B-2

Objetivos

El objetivo de este ensayo fué estudiar el comportamiento de un concentrado de proteína foliar como fuente de proteína substitutiva de la soja, a la vez que determinar las diferencias existentes en la pigmentación, a lo largo del ensayo entre los distintos niveles de inclusión.

Condiciones y desarrollo del ensayo

En ensayo constó de un periodo pre-experimental

de 21 días. El primer período se inició el día 19/12/78 y terminó el día 8/1/79, prosiguiendo el período experimental hasta el día 7/2/79, día en que fueron sacrificadas las aves.

La experiencia se realizó en la Nave Nº 1 de la Estación Experimental del Departamento, situada en el Mas Sedó de Reus. Se utilizaron un total de 2.450 pollitos machos, de un día de edad, pertenecientes a la estirpe comercial Ross-I, y procedentes de la Cooperativa Comarcal de Avicultura de Reus.

Los pollitos fueron alojados en la Nave Nº 1, que dispone de 24 departamentos en línea de $8,5 \text{ m}^2$ cada uno, a razón de 102 pollitos por departamento, lo que corresponde a una densidad de 12 aves/m^2 . La nave dispone de calefacción por butano, comederos de tipo tolva, bebederos automáticos, ventilación natural e iluminación natural y artificial.

El programa de iluminación, consta de dos fases, una primera durante los primeros diez días con luz artificial las 24 horas y una segunda fase durante el resto del ensayo, con tan solo iluminación artificial entre las 4 h. (a.m.) y las 8 (p.m.).

Diseño estadístico y dietas experimentales

La distribución de los pollitos en la nave se realizó al azar y posteriormente, a distintos bloques de departamentos se adjudicaron los distintos tratamientos, de acuerdo con el esquema de distribución.

El diseño estadístico se ajustó a un modelo de tipo factorial, con 2 x 3 tratamientos; 2 tipos de pienso (harina y granulado) y tres tratamientos nutricionales (un control y dos niveles de inclusión). En definitiva cada tratamiento constó de cuatro réplicas.

Los tratamientos experimentales fueron los siguientes:

- T-1 - Pienso control
- T-2 - Pienso con 3,75% de concentrado de proteína foliar
- T-3 - Pienso con 7,5% de concentrado de proteína foliar.

Los tres tratamientos descritos fueron administrados tanto en forma de harina como granulados.

Programa de alimentación

A lo largo del ensayo se siguió un programa de

alimentación de los piensos de acuerdo con la siguiente pauta:

Pienso de crecimiento: 0-21 días (harina)
Pienso de acabado : 21-51 días (harina/gran.)

La composición y valor nutritivo estimado se encuentra expuesto en las Tablas Nos. 9 a 13. La administración tanto del granulado como de la harina fue ad libitum, y con agua a voluntad.

Controles y análisis efectuados

En el curso del ensayo se efectuaron los controles de rendimiento, control de peso vivo, consumo de pienso e índices de conversión por departamentos, a los 21 y 51 días de edad.

Previa a la iniciación del ensayo se realizó un análisis de xantofilas (método A.O.A.C.), para determinar el nivel aportado por los piensos (Tabla Nº 18).

También se realizaron controles para determinar la pigmentación de los pollos a los 35, 42 y 49 días de edad. Estos controles se basaron en la contrastación del

color de los tarsos, mediante el abanico Roche - (0-15). la población contrastada fué del 5 % de los pollos ubicados en cada departamento.

Una vez sacrificados los pollos, se realizó un estudio de pigmentación de la piel y de los tarsos, utilizando un 10% de la población por departamento. El sistema de valoración fué por contrastación visual de color con el abanico Roche-(0-15)

Al sacrificio, también se obtuvieron muestras de piel de tarso de los diferentes tratamientos y con ellas se realizaron análisis de xantofilas (método A.O. A.C.), para determinar el acumulo de estos pigmentos en los distintos tratamientos (Tabla Nº 18).

Descripción de los resultados

Los resultados correspondientes al crecimiento, consumo de pienso e índices de transformación de los pollitos, se encuentran expuestos en la Tabla Nº 15. En ellos se puede comprobar que los distintos tratamientos ofrecen datos no significativos y que por ello se puede indicar, que los niveles de inclusión de concentrado de proteína foliar 7,5% (T-3), y 3,75% (T-2), no influyen

en el desarrollo, ni en los índices de conversión de los pollos.

También se comprobó, que solamente se produjeron datos estadísticamente significativos entre las distintas formas de presentación del pienso, observándose un aumento en el crecimiento de los pollos que consumían granulado, sobre los que recibían el pienso en forma de harina ($P < 0,01$). Asimismo se produjo un descenso del consumo en los que recibieron el pienso en forma granulada ($P < 0,05$). Estos datos no hacen mas que corroborar la tendencia actual referente a la granulación en la fabricación de piensos para broilers.

En cuanto a la interacción entre la forma de procesado en la fabricación del pienso y el nivel de inclusión, los datos no ofrecen ninguna significancia, como podemos también observar en la Tabla Nº 15.

En cuanto a la pigmentación, los datos se encuentran expuestos en las Tablas Nos 16 y 17. En la primera se exponen los resultados obtenidos en los distintos periodos del ensayo. De tales valores se puede observar que a los 35 días del ensayo, aún no se observaban diferencias en la coloración, mientras que estas

eran evidentes a los 42 y 49 días del ensayo ($P < 0,01$). Estas diferencias solamente indican que tanto el T-3 como el T-2 eran superiores al T-1, aunque no diferentes entre sí (Test Newman-Keules).

La falta de diferencias existente entre T-2 y T-3, en cuanto a pigmentación, hace pensar que entre niveles altos de xantofilas amarillas de procedencia de concentrados de proteína foliar, no existen diferencias aparentes para la observación visual, por lo que se deduce, que una mayor cantidad de xantofilas en el pienso no resulta necesariamente en una mayor pigmentación de las aves.

En la Tabla Nº 17 se presentan los datos que hacen referencia a la calidad de pigmentación de la canal, tanto en tarsos como en piel (los datos concuerdan con los de la Tabla Nº 16).

Ahora bien, los datos de pigmentación anteriores se contradicen con los datos procedentes de los análisis químicos (método A.O.A.C., Tabla Nº 18), aunque todo esto no hace más que corroborar que nuestra capacidad óptica no puede detectar las diferencias visuales

entre T-2 y T-3 , y en cambio por valoración química y en cuanto a dihidroxipigmentos (luteína), los tarsos del tratamiento T-3 muestran un contenido en xantofilas superior al observado en el lote T-2 (53 frente a 31, Tabla Nº 18).

4.3. Ensayos en ponedoras

Se realizaron un total de tres ensayos (G-1, G-2 y G-3), tratando de determinar los efectos producidos por la inclusión de distintos niveles de concentrado de proteína foliar sobre los parámetros productivos, así como la posibilidad de determinar la presencia de efectos negativos en el producto a estudiar.

4.3.1. Ensayo G-1

Objetivos

El objetivo de este ensayo fué el de estudiar el comportamiento del concentrado de proteína foliar, como fuente de proteína substitutiva de la soja en especial, y también como materia prima de alto valor pigmentante en raciones para gallinas ponedoras.

Condiciones y desarrollo del ensayo

El ensayo se inició el 4/7/78 y finalizó el día 21 de Octubre de 1978. Constó de un periodo experimental de 109 días.

La experiencia se realizó en la nave Nº 8 de la Estación Experimental del Departamento , sita en Mas Sedó , Reus.

Se utilizaron un total de 60 gallinas de la estirpe Shaver-Starcross-288, de once meses de edad al inicio de la prueba. Se distribuyeron dos aves por jaula. El pienso se suministró en comederos individuales por jaula o réplica. El agua de bebida se suministró mediante bebederos de tipo canal.

Diseño estadístico y dietas experimentales

La distribución de las aves en la nave se realizó al azar y posteriormente a distintos grupos de jaulas se adjudicaron cinco tratamientos al azar.

El diseño estadístico se ajustó a un modelo jerárquico simple, con cinco tratamientos (cinco niveles de sustitución de soja por concentrado de proteína foliar), y seis réplicas por tratamiento.

Los tratamientos experimentales fueron los siguientes:

T-1	- Testigo con	0,0%	de concentrado de proteína foliar					
T-2	- Pienso con	2,5%	"	"	"	"	"	"
T-3	- Pienso con	5,0%	"	"	"	"	"	"
T-4	- Pienso con	7,5%	"	"	"	"	"	"
T-5	- Pienso con	10,0%	"	"	"	"	"	"

Las dietas experimentales respondieron a un tipo de formulación comercial manteniéndose iguales todos los parámetros nutricionales, inclusive el nivel de ran-tofilas, y variando unicamente el porcentaje de proteína foliar (Tablas 19 a 22).

Controles

En el curso de la experiencia se efectuaron los controles siguientes: consumo de pienso, peso medio del huevo, índice de puesta, índice de transformación, espesor de la cáscara del huevo, altura de la clara (Unidades Haugh) y color de la yema, mediante una lectura de contrastación entre la yema y el abanico Roche. Estos datos se obtenían cada 7 días a la misma hora (10 a.n.).

Los datos correspondientes a dos controles sucesivos se refundieron en uno, dejando los resultados expresados con una periodicidad de 14 días.

Para una mejor realización de los análisis estadísticos se acumularon los datos de controles sucesivos, excepto en el primer y último control. Los datos y los análisis estadísticos se presentan en las Tablas Nos. 23 a 30.

Descripción de los resultados

El análisis de los resultados referentes al porcentaje de puesta (Índice de puesta), no muestran diferencias significativas (ver Tabla Nº 23). Ahora bien, la caída de curva de la puesta de las aves que consumían el T-5 (10% de inclusión de concentrado de proteína foliar) alcanza, a lo largo del ensayo un 23% de descenso, frente a porcentajes normales en los tratamientos T-2 y T-3, en tanto que en los tratamientos T-1 y T-4, el porcentaje de pérdida de puesta es nulo, hechos que demuestran que este producto no desfavorece la producción de huevos.

Los datos referentes al consumo de pienso indican que los tratamientos con niveles de inclusión no superiores al 7,5% de concentrado de proteína foliar, no tenían efectos negativos, lo que si ocurre a niveles del 10%, produciéndose una depresión significativa ($P < 0,01$). Según puede apreciarse en la Tabla Nº 23.

La depresión en el consumo puede deberse al tamaño de partículas de concentrado de proteína foliar utilizado, tamaño de la partícula atomizada igual al utilizado en el ensayo B-1.

En cuanto a los índices de transformación (con-

sumo de pienso por docena de huevos), estos se mantienen en relación al nivel de consumo del ave; así tan solo destaca de forma significativa ($P < 0,05$), el tratamiento testigo, cuyo consumo es normal, aunque por defecto de las aves alojadas al azar a tal dieta, estas mantienen un porcentaje de puesta ligeramente inferior al de las aves asignadas a los demás tratamientos.

El tamaño del huevo aumenta durante el ensayo, según aumenta la edad de las aves en todos los tratamientos, excepto en el tratamiento T-5, en el que se produce un descenso del peso del huevo (ver Tabla Nº 25). Este hecho se atribuye a la restricción alimentaria que experimentan las aves del tratamiento T-5, al encontrarse afectados el consumo por los efectos indicados anteriormente.

La calidad interna del huevo expresada en Unidades Haugh, no se ve afectada por los distintos niveles de inclusión de concentrado de proteína foliar. La calidad externa del huevo (espesor de la cáscara), al igual que la interna, no se ha modificado por los diferentes niveles de inclusión de concentrado de proteína foliar.

Los datos referentes a la pigmentación de la yema

del huevo, muestran un descenso de la pigmentación conforme aumenta la inclusión de concentrado de proteína foliar. Estos datos son significativos estadísticamente ($P < 0,01$), como se aprecia en la Tabla Nº 23, y según un test de comparación de medias (test Newman-Keules), son distintos en el orden siguiente:

T-1 > (T-5, T-4, T-3)
T-2 > (T-5, T-4, T-3)
T-3 > (T-5)

Ello indica que la disponibilidad de las xantofilas del concentrado de proteína foliar (luteína), a niveles elevados de concentración, produce una tonalidad amarillo-verdosa, frente a la tonalidad amarillo-roja aportada por los tratamientos con mayor proporción de harina de Marigold (T-1, T-2 y T-3). Es decir, aunque la dosificación de xantofilas en los distintos tratamientos experimentales eran idénticos, se producen diferencias en cuanto a tonalidad (ver Tablas Nos. 19 y 20).

4.3.2. Ensayo G-2

Objetivos

Los resultados obtenidos en el ensayo G-1 nos

llevaron a diseñar este nuevo ensayo, en el que se compara la disponibilidad de las xantofilas de la harina de Marigold frente a las aportadas por el concentrado de proteína foliar, estudiando asimismo su valor como fuente de proteína sustitutiva de soja.

Condiciones y desarrollo del ensayo

Previo al periodo experimental se mantuvieron las aves destinadas al ensayo a una dieta basal (pienso blanco), durante 30 días, dieta que durante el periodo experimental fué el pienso destinado al tratamiento control.

Las gallinas una vez transcurrido un mes con una alimentación basal (pienso blanco), fueron sometidas a un control individual durante un periodo de 15 días (pre-experimental). En cuanto al periodo experimental este fué de 28 días, iniciándose el ensayo el 21/7/79 y finalizando el 18/8/79.

La experiencia se realizó en la Nave Nº 8 de la Estación Experimental del Departamento, sita en el Mas Sedó de Reus. Se utilizaron un total de treinta gallinas

de la estirpe comercial Backok de nueve meses de edad al inicio del ensayo. Las gallinas fueron alojadas en baterías metálicas de dos pisos de altura, tipo "California" en una nave con ventilación forzada e iluminación natural y artificial.

Se distribuyó un ave por jaula. El pienso se suministró en comederos individuales para cada jaula o réplica. El agua de bebida se suministró mediante bebederos de tipo canal.

Diseño estadístico y dietas experimentales.

La distribución de las aves en cada tratamiento se realizó al azar; efectuándose posteriormente un análisis estadístico con los datos pre-experimentales de cada gallina. Por reducción al absurdo, al no ser significativo el análisis estadístico pre-experimental, se consideró que la distribución al azar estaba bien realizada (ver Tabla Nº 34).

El diseño estadístico se ajustó a un modelo jerárquico simple, con cinco tratamientos y seis réplicas por tratamiento.

Los tratamientos experimentales fueron los

siguientes:

- T-1 - Pienso testigo (basal pre-experimental)
- T-2 - Pienso con 15 mg. xantofilas amarillas (H.Marigold)
- T-3 - Pienso con 30 mg. " " " "
- T-4 - Pienso con 15 mg. " " (CPF)
- T-5 - Pienso con 30 mg. " " (CPF)

En todo el período experimental se utilizó la misma dieta, cuya composición y valor nutritivo se encuentra expuesto en las Tablas Nos. 31 y 32.

Controles

En el curso de la experiencia se efectuaron controles de consumo de pienso, peso medio del huevo, índice de puesta, índice de transformación, espesor de la cáscara del huevo (calidad externa), altura del albumen (calidad interna) y color de la yema del huevo, según las tonalidades del abanico Roche.

También se obtuvieron en el laboratorio, mediante el método A.O.A.C., los niveles de xantofilas amarillas existentes en la yema del huevo, tanto en el período pre-experimental como en los controles realizados durante

el ensayo.

Los valores de los parámetros de calidad del huevo (peso, espesor de la cáscara, color, altura del albumen), de cada control son la media de tres días consecutivos a la fecha control de consumo y producción.

Descripción de los resultados

De los datos obtenidos en el primer control a los 14 días del ensayo, no se detectaron diferencias significativas estadísticamente en ningún parámetro, excepto en el color de la yema del huevo (ver Tabla 35). También por análisis químico (método A.O.A.C.) de cuatro huevos por tratamiento, se detectaron diferencias entre los niveles de dihidroxipigmentos en las yemas de los distintos tratamientos (ver Tabla Nº 38).

En el segundo control efectuado a los 28 días, los datos de los distintos parámetros no ofrecieron ninguna significancia estadística y tan solo fué significativo el color de la yema del huevo al igual que sucedió en el primer control (ver Tabla Nº 36).

Las diferencias estadísticas en el color de la

yema del huevo, fueron significativas ($P < 0,01$), según el test de Newman Keules, a los 14 días tan solo, el tratamiento T-5 era superior en color al resto de los demás tratamientos, el T-3 y T-4 eran superiores al T-2 y T-1 (ver Tabla Nº 35). En el último control el tratamiento T-5 también proporcionaba un color superior a los demás piensos y tan solo el T-3 era superior al T-1 y T-2, mientras el T-4 y T-2 eran superiores al T-1 (ver Tabla Nº 36).

4.3.3. Ensayo G-3

Objetivos

El objetivo de este ensayo fué el estudiar distintos niveles de inclusión de proteína foliar, de modo similar al seguido en el ensayo G-1 y confirmar su actuación como materia pigmentante en raciones para gallinas ponedoras.

Período experimental y localización

El ensayo constó de dos fases, una experimental entre el 5/5/79 y 2/6/79 y otra experimental de 98 días, iniciada el 8 de Junio de 1979 y finalizada el 15 de

Septiembre de 1979.

La experiencia se realizó en la nave nº 9 de la Estación Experimental del Departamento, situada en el Mas Sedó de Reus.

Animales y alojamiento

Se utilizaron un total de 200 gallinas de la estirpe comercial Babcock, de siete meses de edad al inicio de la prueba.

Las gallinas fueron alojadas en baterías metálicas de dos pisos de altura, tipo "California", en una nave con ventilación forzada e iluminación artificial y natural. Se distribuyeron dos aves por jaula. El pienso se suministró en comederos individuales por réplica (cinco jaulas por réplica). El agua de bebida se suministró mediante bebederos de tipo canal.

Diseño estadístico y tratamientos

La distribución de las aves en la nave se realizó al azar y posteriormente a distintos grupos de cinco

jaulas se adjudicaron cinco tratamientos al azar.

El diseño estadístico se ajustó a un modelo jerárquico simple, con cinco tratamientos (cinco niveles de inclusión de concentrado de proteína foliar) y cuatro réplicas por tratamientos.

Los tratamientos experimentales fueron los siguientes:

T-1	- Testigo con	0,0%	de concentrado de proteína foliar				
T-2	- Pienso con	3,7%	"	"	"	"	"
T-3	- Pienso con	7,5%	"	"	"	"	"
T-4	- Pienso con	10,0%	"	"	"	"	"
T-5	- Pienso con	14,0%	"	"	"	"	"

Dietas experimentales

En todo el período se empleó la misma dieta, cuya composición y valor nutritivo se encuentra expuesto en las Tablas Nos 40 a 42 .

Controles

En el curso de la experiencia se efectuaron los controles siguientes: consumo de pienso, peso medio del

huevo, índice de puesta, índice de transformación, espesor de la cáscara del huevo, altura de la clara (Unidades Haugh) y color de la yema del huevo. El color de la yema se valoró mediante la contrastación entre la yema y el abanico Roche. Estos datos se obtenían cada 14 días a la misma hora.

Al iniciarse el ensayo, se pesaron un total de cuatro aves por réplica y asimismo, se realizó al finalizar el ensayo. La temperatura ambiente de la nave se controló diariamente, mediante un termómetro de máximas y mínimas.

Resultados

El análisis de los resultados acumulados referentes al porcentaje de puesta (índices de puesta), consumo de pienso, índice de transformación, no muestran diferencias significativas. (Tabla Nº 43).

Los datos referentes a la calidad del huevo, peso medio del huevo, calidad exterior (espesor de la cáscara) y calidad interna expresada en Unidades Haugh, no se encuentran afectados estadísticamente por el nivel de inclusión de concentrado de proteína foliar (Tabla Nº 43).

Los datos correspondientes a la pigmentación de la yema del huevo, muestran un aumento de forma significativa ($P < 0.01$), conforme aumenta el nivel de inclusión de concentrados de proteína foliar en la dieta.

Los datos de pigmentación de la yema, según un test de comparación de medias (test Newman-Keules), muestran que la pigmentación del tratamiento control es inferior a los demás tratamientos, y tan solo el tratamiento T-5 es superior al T-2. Los demás tratamientos no son diferentes entre sí.

4.4. Ensayo sobre la valoración de la energía verdadera metabolizable de los concentrados de proteína foliar.

Objetivo

Teniendo en cuenta la falta de información existente respecto al valor para la avicultura de los concentrados de proteína foliar, y para comprobar el valor energético, se diseñó un ensayo biológico basado en el método Sibbald (1975).

La técnica utilizada aporta los valores de energía verdadera metabolizable, teniendo en cuenta la energía que

se pierde a través de las heces de las aves, como resultante del metabolismo endógeno y obteniéndose de esta forma, la energía verdadera metabolizable de los alimentos.

Se utilizó esta técnica, de la energía verdadera metabolizable de Sibbald (1975), por su actualidad y también por su sencillez y en consecuencia menor trabajo, así como por la obtención de los resultados en un espacio de tiempo más reducido. Otro aspecto a destacar, es el escaso margen de error que se produce en la recogida de las heces y asimismo un control riguroso en la toma de las materias a estudiar.

Condiciones y desarrollo del ensayo

La muestra de concentrado de proteína foliar utilizada para la valoración de la energía verdadera metabolizable, correspondía al corte efectuado el 27 de Septiembre en una explotación ubicada en la comarca del Segrià (Lérida).

La composición de la materia prima estudiada es la siguiente:

Composición del concentrado de proteína foliar

Humedad	7,81 %
<u>Extractos libres no nitrógenados:</u>	
Almidón	0,81 %
Azúcares	1,66 %
Extracto etéreo	4,60 %
Cenizas	11,90 %
Proteína bruta	51,03 %
Fibra ácido detergente	1,99 %
Fibra neutra detergente	6,33 %
Celulosa	0,05 %
Lignina	0,63 %
Hemicelulosa	4,34 %
Pentosanas	2,45 %

La energía metabolizable del concentrado de proteína foliar, según la ecuación de Carpenter y Clegg (1965), es de 2498 Kcal/kg.

Características del ensayo

Se utilizaron cinco pollos para la determinación de la energía endógena y asimismo, se utilizaron un total

de ocho pollos para la alimentación forzada. El peso medio del total de los pollos era de 1,750 kg. Se forzó un promedio de 31 gramos de materia prima por ave.

El período de ayunas inicial constó de 48 horas y el período de recogida de 24 horas. En las bandejas de recogida de las heces, no se detectaron restos de concentrados de proteína foliar a consecuencia de vómitos o devoluciones. (El peso de materia prima forzada en las aves por nosotros, coincide con los valores aplicados por Sibbald (1977d). El secado de las heces se realizó posteriormente a la recogida, a 80°C durante 20 horas.

Peso del concentrado de proteína foliar suministrado y energía asumida por cada pollo sometido a la alimentación forzada.

Pollo	Peso concentrado	E.B.	Energía suministrada
1	27,0413	4745	128311 Cal.
2	29,1800	4745	138934 "
3	31,6688	4745	150268 "
4	32,5264	4745	154338 "
5	31,2418	4745	148242 "
6	33,1796	4745	157437 "
7	28,6493	4745	135941 "
8	35,6151	4745	168984 "
	<u>31,1503</u>		<u>147808 CAL.</u>

La energía endógena producida por los pollos en ayunas fué la siguiente:

<u>Pollo</u>	<u>Peso heces</u>	<u>E.B.</u>	<u>Energía endógena</u>
1	3,9535	2605	10299 Cal.
2	4,8112	2548	12258 "
3	4,8619	2492	12116 "
4	3,4813	2694	9274 "
5	6,8546	2600	17822 "
	<u>4,7925</u>	<u>2587</u>	<u>12375 al.</u>

La valoración de la energía endógena del pollo Nº 5, se rechaza de la tabulación para la obtención de la media, al estar los valores fuera de los márgenes de confianza.

La energía excretada por los pollos sometidos a la alimentación forzada a base de concentrados de proteína foliar fué la siguiente:

<u>Pollo</u>	<u>Peso heces</u>	<u>E.B.</u>	<u>Energía excretada (cal)</u>
1	12,1411	3310	40187
2	12,1717	3195	38889
3	15,0711	3199	48212
4	16,7577	3255	54546
5	16,3108	3395	55375
6	15,8177	3220	50933
7	11,4995	3146	36173
8	21,0599	3175	66865
<u>x</u>	<u>15,1036</u>	<u>3237</u>	<u>48897</u>

Una vez obtenidos los resultados anteriores se aplica la ecuación de la energía verdadera metabolizable de Sibbald (1975).

E.M.V. : E.B. - (E. ex. - E. en.) / peso materia

<u>Pollo</u>	<u>E.M.V.</u> Cal/gr.	<u>E.M.V. (sustancia seca)</u> Cal/gr.
1	3666	3980
2	3793	4118
3	3570	3876
4	3407	3699
5	3325	3610
6	3542	3845
7	3867	4198
8	3177	3449
<u>x</u>	<u>3543 ± 234</u>	<u>3847 ± 254</u>

Los resultados anteriores establecen la energía metabolizable aparente.

E.M.A. : E.B. - E. ex/peso materia

<u>Pollo</u>	<u>E.M.A.</u> cal/gr	<u>E.M.A. (sustancia seca)</u> cal/gr
1	2259	3538
2	3416	3709
3	3223	3499
4	3968	3331
5	2973	3228
6	3210	3485
7	3482	3780
8	2868	3114
x	3187 \pm 210	3461 \pm 228

4.5. Determinación de la composición aminoacídica de los concentrados de protefna foliar, pertenecientes a distintos cortes realizados durante la campaña de 1979.

Objetivos

El objetivo del presente ensayo fué la valoración y estudio de la composición aminoacídica de los concentrados de protefna foliar, obtenidos en una misma area de

producción y de una misma variedad, con la finalidad de determinar la influencia del período climático y de los distintos cortes a que se somete este tipo de cultivo, sobre su composición aminoacídica y calidad aparente de los concentrados de proteína foliar obtenidos a partir de estos cortes.

Descripción del ensayo

A fin de llevar a cabo este ensayo, se eligió un área productora de alfalfa de alta calidad (variedad Aragón) denominada Polvorin, situada en el término municipal de Suchs, comarca del Segria (Lérida).

Los cortes de esta se produjeron con una periodicidad de 28 días aproximadamente. Una vez cortado, el forraje era trasladado y procesado en un espacio de tiempo inferior a las tres horas. Las muestras del producto obtenido se mantenían en el laboratorio a baja temperatura, llevándose a cabo el análisis de su contenido en aminoácidos en un plazo de tiempo no superior a las 24 horas, en los laboratorios del Consejo Superior de Investigaciones "Juan de la Cierva" de Barcelona.

Descripción de los resultados

Los resultados de los diferentes cortes se pre-

sentan en las Tablas XXII y XXIII. El estudio de los diferentes aminogramas revela que no existen diferencias substanciales en cuanto a la composición aminoacídica de la proteína foliar estudiada.

Los datos de la Tabla Nº XXII - comparados con los datos de los aminogramas de los primeros cortes 1 y 2 de la Tabla Nº XXIII son muy semejantes en cuanto a porcentaje y por ello se puede afirmar que el sistema de procesado no afecta a la calidad de la proteína.

En los primeros cortes se efectuó asimismo el análisis correspondiente a las hojas, obteniéndose unos resultados muy parecidos a los propios del C.P.F. obtenido según el corte. Asimismo se comprobó la dificultad para determinar la valoración del triptófano existente en las hojas verdes. (Ver Tabla XXIII).

TABLA NoXXII - Composición aminoacídica del C.P.F. de los distintos cortes obtenidos en 1979.

Aminoácido	Número cronológico del corte					
	1	2	3	4	5	6
A. aspártico	11,0	10,9	11,6	11,0	11,9	11,1
Treonina	5,2	5,4	5,3	5,2	5,4	5,4
Serina	4,5	4,5	4,3	4,3	5,2	4,3
A. glutámico	12,3	12,1	11,8	11,6	12,6	12,2
Prolina	4,4	5,3	5,1	4,5	4,7	5,1
Glicina	5,6	5,3	5,7	5,6	5,7	5,5
Alanina	6,5	6,0	5,6	7,3	6,9	6,0
Cistina	1,2	2,0	3,6	1,6	1,4	1,0
Valina	4,9	4,7	4,6	4,9	5,1	5,3
Metionina	1,9	1,7	1,9	1,7	1,9	1,9
Isoleucina	3,9	4,2	4,2	4,1	4,1	4,5
Leucina	9,3	9,5	9,5	9,3	7,7	9,5
Tirosina	5,8	4,9	5,3	5,2	5,3	5,3
Fenilalanina	7,3	6,3	6,7	6,7	6,7	6,4
Lisina	6,7	6,2	5,6	6,2	5,8	6,5
Histidina	2,1	2,7	1,5	2,6	2,7	1,8
Arginina	6,4	6,6	6,4	6,6	6,5	6,7
Triptófano	1,4	1,2	1,1	1,0	1,3	0,9
Prot. Bruta	49,8	53,3	44,9	50,5	60,2	61,6

TABLA NoXXIII - Composición aminoacídica de las hojas pertenecientes a los dos primeros cortes.

Aminoácido	Cortes			
	18/4/79		2/6/79	
	Total	%	Total	%
Aspartico	2,6	11,4	2,2	14,8
Treonina	1,2	5,2	0,8	5,4
Serina	1,1	4,9	0,8	5,3
Glutámico	3,3	14,2	1,7	11,6
Prolina	1,2	5,1	0,9	5,9
Glicina	1,4	6,3	0,8	5,4
Alanina	1,4	6,1	1,0	6,8
Cistina	0,2	0,8	0,2	1,2
Valina	1,1	4,8	0,7	5,0
Metionina	0,3	1,4	0,1	0,6
Isoleucina	0,8	3,5	0,6	4,3
Leucina	2,1	9,1	1,4	9,2
Tirosina	1,2	5,0	0,5	3,7
Fenilalanina	1,5	6,5	1,3	8,7
Lisina	1,6	6,8	0,9	6,4
Histidina	0,5	2,2	-	-
Arginina	1,4	6,2	0,7	5,0
Triptófano	-	-	-	-
	23,5	100,0	15,1	100,0

5. DISCUSION DE RESULTADOS

DISCUSION DE RESULTADOS

Al efectuar la exposición de los resultados obtenidos en los diferentes ensayos realizados, nos referimos a la interpretación de los mismos, considerando por separado los aspectos más importantes definidos al iniciar el trabajo: influencia de los distintos niveles de inclusión de concentrados de proteína foliar sobre los diferentes parámetros productivos, influencia del tamaño de partícula, calidad de las xantofilas procedentes de los concentrados de proteína foliar en relación a las de otras fuentes, etc.

5.1. Resultados en broilers

El estudio del valor nutritivo de los concentrados de proteína foliar en pollos de carne, tipo "broiler" se diseñó a través de la incorporación de distintos niveles del producto experimental, manteniendo todos los parámetros nutritivos a idéntico nivel, a fin de revelar posibles deficiencias nutricionales y alcanzando únicamente el nivel de 7,5% de incorporación, ya que por su elevado contenido en minerales, principalmente calcio, su incorporación a niveles superiores se hacía impracticable.

5.1.1. Influencia del nivel de concentrado de proteína foliar sobre los parámetros productivos.

En el ensayo B-1 se alcanzaron niveles de inclusión de hasta el 7,5% de concentrado de proteína foliar, sin que se detectaran efectos negativos o depresores sobre el crecimiento, atribuibles a la presencia de factores negativos o depresores en el producto estudiado.

No obstante, en este primer ensayo se detectó una disminución del consumo de pienso a partir del 5% de inclusión, efecto aparentemente debido al tamaño de la partícula del concentrado de proteína foliar, que en este caso se presentó atomizada. En este mismo ensayo, se determinó una deficiencia similar en cuanto a transformación de las distintas dietas. El ritmo de crecimiento solo fue frenado por el descenso del consumo de pienso. A este efecto se realizó una prueba de palatabilidad en la cual, la preferencia de los pollos se dirigía hacia los piensos de menor nivel de inclusión de concentrado de proteína foliar. Estos resultados parecen en principio confirmar los aportados por Villey (1978), realizados con productos concentrados proteicos de la firma "France Lucerne" y en los que los niveles inferiores a un 5% no afectan el crecimiento, consumo e índices de conversión, en tanto que cuando su inclusión es del 10%, estos parámetros se ven afectados. También consideró que con incorporaciones

inferiores al 15% se producen efectos desfavorables, desde un punto de vista de crecimiento y de los índices de conversión.

Sin embargo los datos obtenidos por nosotros en el ensayo B-1 deben considerarse, a nuestro parecer, como consecuencia de la excesiva atomización del producto, el cual afectaba el consumo de pienso, y asimismo no relacionarlos con los resultados negativos de los demás autores.

Los resultados obtenidos en el ensayo B-1 nos llevaron a modificar la presentación física del producto experimental, a fin de evitar el evidente rechazo de consumo, a niveles de inclusión elevados, provocado por la excesiva finura del producto atomizado. A tal efecto, la presentación del pienso en el ensayo B-2 fué en forma granulada, incluyéndose el producto experimental a diferentes niveles, alcanzándose de nuevo el 7,5% como máximo.

En este ensayo se obtuvieron unos rendimientos excepcionales y en ellos no se produjo ninguna diferencia a causa de los niveles de inclusión de concentrado de proteína foliar. Se produjeron diferencias entre los piensos granulados y los piensos en forma de harina, obteniéndose mejores rendimientos con las dietas granuladas, que con las presentadas en forma de harina, efecto debido a la

forma física del pienso, ya destacados por autores como Summers (1975).

En este ensayo se confirmó que los niveles de inclusión de concentrado de proteína foliar, tanto en forma granulada como en harina, pueden alcanzar niveles del 7,5% sin alterar en absoluto la productividad, hecho que se ve confirmado por los datos de Kuzmicky (1972), el cual detectó que a niveles del 20% no se producen efectos negativos, mientras que si ocurre a niveles del 54% a consecuencia del alto contenido en potasio. Este mismo autor señala que niveles del 50% de concentrado de proteína foliar, con un porcentaje inferior al 6% en cenizas, no producían efectos negativos. En general, Kuzmicky y col. (1972), consideran que el efecto negativo de concentrado de proteína foliar a niveles elevados de inclusión, se debe al alto nivel de cenizas presentes en la dieta y en consecuencia se produce un alimento de escasa concentración nutritiva. En nuestro caso, debido al elevado contenido en calcio de la muestra, no nos fué posible alcanzar niveles de inclusión superiores al 7,5%.

En este ensayo, tampoco se detectaron efectos debidos a una posible interacción entre el nivel de inclusión y la forma de presentación del pienso, por lo que se puede considerar que el efecto mejorador de la granulación no se

establece y que el concentrado de protefna foliar utilizado en forma de harina no afecta al consumo. Es de destacar que el concentrado de protefna foliar utilizado no era en forma atomizada y el tamaño era similar a las demás partículas utilizadas normalmente en la fabricación de piensos compuestos para broilers.

5.1.2. Influencia del nivel de concentrado de protefna foliar sobre la coloración del tarso y de la piel.

Las inclusiones de concentrado de protefna foliar, ofrecen una pigmentación satisfactoria, en cuanto el nivel de inclusión aumenta. Sin embargo, a partir de cierto nivel de inclusión, el contenido o bien la densidad de xantofilas en las dietas es tan elevada que no resulta en aumentos de la pigmentación aplicables a simple vista.

En el ensayo B-1, como puede observarse en la Tabla Nº 8, el efecto de la inclusión de concentrado de protefna foliar fué altamente significativo, aumentando la pigmentación de la piel del tarso a medida que aumentaba el porcentaje de inclusión en la dieta, hasta el nivel del 5%, ya que con niveles superiores a este no se obtenían aumentos significativos en la pigmentación.

En el ensayo B-2, los niveles de xantofilas entre los tratamientos T-2 y T-1, eran idénticos y a su vez inferiores al T-3 (ver Tablas Nos. 16 y 17), sin embargo, tan solo se produjeron diferencias entre el T-1 y T-3, tanto en tarso como en piel al sacrificio. Este hecho evidencia que, 1º) el poder pigmentante de los concentrados de proteína foliar es superior a los de la harina de Marigold, y 2º) que entre niveles elevados de concentración de pigmentantes, al igual que en el ensayo B-1, no se producen diferencias significativas.

En definitiva, el hecho de que obtenga una mejor pigmentación, por parte de los concentrados de proteína foliar, coincide con los datos aportados por Kuzmicky y col. (1977).

5.2. Resultados en ponedoras

Los primeros estudios sobre la inclusión de concentrados de proteína foliar fueron realizados por Cowlishaw y Eyles (1956) y posteriormente destacan los realizados por Kuzmicky y col. (1977), así como los no publicados por la Universidad de Reading y reseñados por Morris (1977).

En la actualidad el uso de concentrados de protefna foliar tiene un gran interés, ya que puede suplir la inclusión de harina de soja y a su vez aportar sustancias pigmentantes para la yema del huevo. Sin embargo, se ha comprobado que a partir de ciertos niveles se producen efectos contraproducentes, como la producción de yemas de color amarillo verdoso, efecto citado por Morris (1977). En general se puede indicar que no se producen efectos negativos a excepción de los referidos sobre el color de la yema, a consecuencia de su inclusión en las dietas para ponedoras.

5.2.1. Influencia de los niveles de concentrado de protefna foliar sobre los parámetros productivos.

En los ensayos realizados en ponedoras, la inclusión del concentrado de protefna foliar a distintos niveles no produjo efectos negativos sobre el ritmo de producción de huevos. La excepción se produjo en el ensayo G-1, en el que se observó una reducción del consumo de pienso a partir del nivel de inclusión del 10% (T-5), produciéndose un descenso de los parámetros productivos, en las aves sometidas a esta dieta.

Los datos del ensayo G-1 pueden coincidir con los aportados por Villey (1978), y realizados en la Estación de Merelbeke (Francia), en los que se indica que a niveles

de inclusión del 6% se produce una baja en la producción de huevos, sin relacionarse con la pérdida del tamaño del huevo el cual se mantiene.

En los ensayos G-2 y G-3, los niveles de inclusión abarcan desde 2,5% hasta el 14% y en ambos ensayos no se producen efectos negativos en la producción de huevos y el ritmo de consumo de pienso es parejo a los tratamientos controles. Es de destacar, que en el ensayo G-3, se ha llegado a doblar el nivel de inclusión de concentrado de proteína foliar existente en el primer ensayo de ponedoras, sin producir efectos negativos.

En el primer ensayo de ponedoras, al igual de lo observado en broilers, se puede señalar que la reducción del consumo de pienso se debe al tamaño de partículas usado en los primeros ensayos, donde se utilizaba un producto en forma atomizada.

Los datos de los ensayos G-2 y G-3 confirman los resultados de Morris (1977), el cual indicó que no se producen efectos negativos en la producción de las gallinas ponedoras, cuando se incluye en la dieta niveles del 20% de concentrado de proteína foliar.

Así pues, con los resultados de G-2 y G-3, y asimismo del G-1 se puede confirmar, junto con Morris (1977), que los datos negativos aportados por Cowlshaw y Eyles (1956), se debían a una baja calidad de los concentrados de proteína foliar utilizados.

5.2.2. Influencia de los niveles de concentrado de proteína foliar sobre la calidad del huevo, tanto interna como externa.

El tamaño del huevo en el ensayo G-1 aumenta durante el ensayo, al igual que sucede en el ensayo G-3. En el ensayo G-2 esta misma tónica se produce, aunque no de forma tan notable, al ser el período del ensayo de corta duración (ver Tablas Nos. 23, 35 y 36). La única excepción observada en el crecimiento del tamaño del huevo es la del T-5 del ensayo G-1, en el cual se produce un descenso en el peso del huevo. Este hecho se atribuye a la restricción alimentaria que experimentan las aves del tratamiento T-5.

La calidad interna del huevo, expresada en Unidades Haugh, no se ve afectada a ningún nivel de inclusión de concentrado de proteína foliar en los diferentes ensayos realizados.

La calidad externa del huevo (espesor de la cáscara), al igual que la interna, no se ve modificada por

los niveles de inclusión de concentrado de proteína foliar en los distintos ensayos realizados (ver Tablas Nos. 23, 35 y 36).

Así, todos los datos de la calidad del huevo pueden considerarse normales a causa de la propia formulación de las distintas dietas. Ahora bien, también estos resultados confirman la buena calidad nutricional de los concentrados de proteína foliar, ya señalada por autores como Kuzmicky (1977), Morris (1977), y Villey (1978).

5.2.3. Capacidad pigmentante de las xantofilas presentes en los concentrados de proteína foliar en comparación con otras materias primas.

En el ensayo G-1 los resultados de pigmentación de la yema del huevo muestran un descenso en la coloración conforme aumenta la inclusión de concentrado de proteína foliar (ver Tabla Nº 23).

La interpretación de esta observación parece ser el incremento en las xantofilas amarillas (dihidroxipigmentos) o luteína en las dietas y con ello no se alcanzan las tonalidades anaranjadas deseadas y se produce un color

amarillo sin tonalidad roja, obteniéndose a niveles elevados unas yemas con tonalidad verdosa. Así los datos aportados en el ensayo G-1 (Tabla Nº 23), confirman lo expuesto por Morris (1977) y Jones (1977), sobre la tonalidad de coloración de la yema de los huevos, producidos a base de altos niveles de concentrado de proteína foliar.

De los resultados del ensayo G-2, se desprende que el aporte de xantofilas amarillas (dihidroxipigmentos) o luteína, procedentes del concentrado de proteína foliar (tratamientos T-5 y T-4), son comparativamente más efectivas que las xantofilas amarillas de la misma naturaleza aportadas por la harina de Marigold.

Hemos observado que niveles de 30 p.p.m. aportados por la harina de Marigold, no daba huevos con mayor coloración que los aportados por el pienso T-4 con 15 ppm aportadas con concentrado de proteína foliar. Este hecho se confirma en los análisis de laboratorio, realizados mediante la extracción de las xantofilas amarillas de la yema del huevo, realizados en las muestras del tratamiento T-4, tanto a los catorce días como a los veintiocho días, detectándose mayor cantidad de xantofilas que en las muestras de los huevos pertenecientes al tratamiento T-3 (ver Tablas Nos. 35 y 36).

Los resultados del ensayo G-2, siguen la tónica de los datos obtenidos por Kuzmicky y col. (1977) y en ellos se determina que los concentrados de proteína foliar presentan una mayor disponibilidad de sus xantofilas que la harina de Marigold en gallinas ponedoras. Es también significativo destacar las diferencias existentes en la pigmentación entre niveles idénticos de aporte xantofílico, como se puede observar en la Tabla N^o 37 y 38.

Según datos aportados por el ensayo G-2, la disponibilidad de las xantofilas amarillas existentes en los concentrados de proteína foliar es aproximadamente 1,5 veces superior a las de la harina de Marigold. En este sentido, en los trabajos de Kuzmicky (1977), se detecta una disponibilidad de 2:1 frente a la harina de Marigold y de 1,7:1 frente a la harina de alfalfa deshidratada.

5.3. Comentarios sobre la valoración aminoacídica de los diferentes concentrados de proteína foliar obtenidos de los diferentes cortes de alfalfa realizados durante la campaña de 1979.

Los valores de la composición aminoacídica muestran unos resultados parecidos a los aportados por otros autores como Pirie (1971), Kuzmicky (1972), Galopini (1978),

Byers (1971), etc. Nuestros resultados coinciden con los datos de los diferentes autores debido a que la materia prima inicial es la misma (alfalfa).

La composición aminoacídica a lo largo de los diferentes cortes, no se encuentra modificada y por ello se puede afirmar lo que expone Chessman (1977), en su trabajo y según el cual no se producen diferencias en los porcentajes de los aminoácidos, entre los distintos jugos obtenidos del fraccionamiento vegetal de los diferentes cortes realizados sobre la misma explotación de alfalfa. Sin embargo, este autor señala un incremento en el porcentaje de lisina en el último corte realizado (ver Tabla Nº VII).

Otro aspecto destacable de los aminogramas realizados, fué la confirmación de que el proceso industrial no afecta a la composición aminoacídica, como se puede observar en las Tablas XXII y XXIII. Es asimismo remarkable, la incapacidad de detección de triptófano por parte del sistema para-amino-betasulfónico en las hojas verdes frescas, efecto también detectado en diversos aminogramas de hojas de alfalfa aportados por varios de los autores reseñados.

5.4. Valoración de la energía verdadera metabolizable de los concentrados de protefna foliar.

La valoración energética de los concentrados de protefna foliar en avicultura, han sido realizados por Kuzmicky y col. (1977) y otros autores como Gastineau (1975) en Francia, con producto obtenido por "France Lucerne". La valoración aportada por los diferentes autores varía según la calidad de la muestra utilizada, aunque todos ellos realizaron el ensayo biológico mediante la técnica de recogida total y con pollos en la fase de crecimiento. La valoración del concentrado de protefna foliar, se basaba en la introducción de concentrados de protefna foliar en la dieta control. Los datos aportados por Gastineau (1975) fueron 2607 Kcal/kg., y de 2640 Kcal/kg. los obtenidos por Kuzmicky y col. (1977) en los Estados Unidos.

El producto utilizado en el ensayo biológico realizado por nosotros daba por análisis, y aplicando la fórmula de Carpenter y Clerg (1965), una energía metabolizable aparente de 2498 Kcal./kg.

Este producto, una vez ensayado mediante la aplicación de las técnicas aportadas por Sibbald (1975) para la obtención de la energía verdadera metabolizable, nos

ofrecía una energía de 3543 ± 234 Kcal/kg. y una energía metabolizable aparente de 3187 ± 210 Kcal/kg.

Se debe hacer constar que la valoración energética de cualquier producto, mediante la aplicación de la energía verdadera metabolizable, es superior a la valoración de la energía metabolizable aparente de la misma muestra.

Sibbald (1977a), determinó una recta de regresión entre los valores de energía verdadera metabolizable y los valores de energía metabolizable aparente. La ecuación de la recta es la siguiente:

$$\text{E.V.M.} = 0,065 + 1,080 \text{ E.M.A.}$$

En nuestro caso, aplicando dicha ecuación a nuestros datos experimentales, obtenemos la cifra de 3280 Kcal/kg., valor que es aproximado al obtenido por nosotros en ensayos biológicos.

La técnica para la valoración de la energía verdadera metabolizable es sencilla y contempla diversas ventajas, sin embargo, puede ser criticada en los siguientes puntos:

- 1) Con este sistema se reduce la toma de alimen-

tos, y consecuentemente se produce una sobrevaloración energética de los alimentos ensayados (Farrell, 1978).

2) Se produce una infravaloración de las materias ricas en energía (almidón) en comparación con las materias proteicas. Esta acción se debe a la aplicación de la alimentación forzada y con ello la reducción del proceso digestivo enzimático que se realiza sobre los hidratos de carbono, en las primeras porciones del tracto digestivo, aunque creo esto sería de poca importancia.

6. CONCLUSIONES

CONCLUSIONES

1. El concentrado de proteína foliar, objeto de esta tesis, procedente de alfalfa (*M. sativa*), representa una fuente proteica perfectamente adecuada para su empleo en alimentación animal.
2. El elevado contenido proteico y la composición aminoacídica de los concentrados de proteína foliar, es semejante a otras materias primas actualmente utilizadas y su disponibilidad nutricional es elevada sin que parezca existir ningún aminoácido esencial en forma marcadamente limitante.
3. La riqueza energética es elevada y con valores superiores a la energía metabolizable aparente de la harina de soja (48% de proteína bruta), y está situada en 3187 ± 210 Kcal/kg. de energía metabolizable aparente y en 3543 ± 234 Kcal/kg. de energía verdadera metabolizable.
4. La riqueza de xantofilas de los concentrados de proteína foliar es elevada y se encuentra en valores medios de 550 mg./kg. de producto ,

pudiendo alcanzar valores superiores según las técnicas del proceso. El contenido en xantofilas amarillas o luteína (dihidroxipigmentos), representa la casi totalidad de las xantofilas existentes.

5. La calidad de la proteína y su contenido en aminoácidos no se encuentra afectada por los sistemas de producción y de los cortes. Sin embargo, tanto la cantidad de contenido proteico como xantofílico se ve afectada.
6. El contenido elevado en cenizas, en especial sales cálcicas, existente en los concentrados de proteína foliar, limita su inclusión en las dietas para broilers y cerdos. Sin embargo, este efecto no se produce en dietas para ponedoras, ya que en estas la necesidad de calcio y tolerancia a las cenizas es muy superior.
7. La inclusión de concentrado de proteína foliar en las dietas para broilers, hasta niveles de 7,5%, no afecta los niveles de consumo, ni los índices de conversión y velocidad de crecimiento.

8. Debido al elevado contenido en xantofilas amarillas (luteína) en los concentrados de proteína foliar, y a su vez a su gran disponibilidad, se produce una excelente pigmentación en la piel y tarsos de los broilers.
9. Los niveles de consumo, porcentaje de puesta, peso de las aves e índices de conversión no se ven afectados por la inclusión de concentrados de proteína foliar hasta el 14% en las dietas de ponedoras.
10. El peso del huevo, calidad externa, espesor de la cáscara, calidad interna (expresada en Unidades Haugh) no se ven afectados por la inclusión de concentrados de proteína foliar, si bien la pigmentación de la yema del huevo varía por el aumento de contenido xantofílico.
11. El elevado contenido en xantofilas amarillas (luteína) en la dieta de gallinas ponedoras, por la inclusión elevada de concentrado de proteína foliar, dan una elevada concentración de luteína en la yema, dificultando la obtención de tonalidades anaranjadas.

12. Considerando el conjunto de características químicas y nutricionales y su elevada digestibilidad, se puede concluir que los concentrados de proteína foliar, representan una fuente de proteína de elevado valor nutricional para las especies monogástricas, y muy especialmente avicultura, por su poder pigmentante adicional.

7. RESUMEN

R E S U M E N

En este trabajo se estudian los efectos de la inclusión de concentrados de proteína foliar procedentes de la alfalfa (*M. sativa*), como fuente de proteína para la alimentación de broilers y ponedoras, sobre los parámetros productivos y de calidad de producto obtenido.

Las experiencias realizadas se efectuaron en la Estación Experimental del Departamento de Biología y Bioquímica de la Universidad Politécnica de Barcelona, situada en Reus (Tarragona), utilizándose un total de 3.000 broilers, 330 gallinas ponedoras y 25 pollos Leghorn (estirpe Shaver-Starcross), en el curso de un total de seis ensayos.

Los resultados obtenidos conducen a considerar que los concentrados de proteína foliar carecen de efectos negativos para la alimentación de animales monogástricos, y que su capacidad nutricional es similar a la harina de soja del 48% de proteína.

A consecuencia de su contenido en xantofilas, los concentrados de proteína foliar son materias primas con un elevado valor nutritivo-económico para la alimen-

tación avícola y en especial para el pollo de tipo broiler. Sin embargo, su elevado nivel de cenizas puede limitar la inclusión de los concentrados de proteína foliar a niveles altos.

En los estudios realizados en ponedoras, el contenido en cenizas no limita su utilización, aunque si lo hace el contenido en xantofilas amarillas, existente en los concentrados de proteína foliar, los cuales se acumulan en la yema y producen dificultades en la obtención de yemas con unas tonalidades anaranjadas.

En definitiva, los concentrados de proteína foliar están constituidos por una proteína con un alto valor nutritivo, así como por una capacidad energética notable y con un contenido xantofílico con una alta disponibilidad para la pigmentación del broiler.

8. AGRADECIMIENTOS

AGRADECIMIENTOS

Deseo expresar mi más sincero agradecimiento al Prof. Dr. D. Francisco Puchal Mas, por su dirección y constante dedicación que han hecho posible el desarrollo de esta tesis.

A D. Joaquin Carbonell del Departamento de Control de Calidad de Piensos Hens, S.A., por su ayuda y colaboración en el desarrollo de las técnicas analíticas.

Al Instituto de Tecnología Química y Textil del Consejo Superior de Investigaciones Científicas "Juan de la Cierva" y en especial al Dr. J. Parra por su consejo y orientación en la realización de los aminogramas.

A Dña. Conchita López-Bayson por la ayuda facilitada en la interpretación estadística de los resultados obtenidos.

A mis compañeros del Departamento de Biología y Bioquímica de la Universidad Politécnica de Barcelona y al personal encargado de la Estación Experimental, y a todos aquellos que con sus ideas, ayuda y correcciones, han hecho posible la realización de este trabajo.

A todo el personal técnico de Aproalfa, S.A., por su desinteresada ayuda y suministro de las muestras experimentales.

TABLA Nº 1 - ENSAYO B-1
Composición de las dietas experimentales

INGREDIENTES	Tratamientos				
	T-1	T-2	T-3	T-4	T-5
	0.00	0.00	2.50	5.00	7.50
MAIZ USA	65,31	71,21	71,16	71,32	71,30
SOJA-48%	25,51	21,03	19,09	16,87	14,30
C.P.F.	0,00	0,00	2,50	5,00	7,50
PESCADO-65%	3,00	2,16	2,00	2,00	2,00
GRASA	2,81	2,11	2,06	1,94	1,90
CARBONATO CALCICO	0,55	0,54	0,33	0,12	0,00
FOSFATO BICALCICO	1,85	2,03	1,98	1,91	1,85
SAL	0,50	0,51	0,47	0,42	0,37
CLORURO COLINA 50%	0,07	0,10	0,12	0,13	0,15
HARINA DE MARIGOLD	0,04	0,00	0,00	0,00	0,00
METIONINA-DL 98%	0,16	0,09	0,09	0,08	0,08
CORRECTOR (1)	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20
	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00

(1) Corrector Vitamínico-Mineral aportado por kilo de pienso:
 Vit. A, 9.000 UI; Vit. D, 2.000 UI; Vit. K, 3,8 mg.; Vit. E, 10,0 mg.; Vit. B₁₂, 15,0 ug.; Vit. B₂, 8,0 mg.; Ac. Pan., 15,0 mg.; Ac. Nic., 40,0 mg.; Mn, 65 mg.; Fe 40 mg.; Zn 100 mg.; Cu 4,5 mg.; I, 0,75 mg.; Co, 0,4 mg.; Etoxiquin, 125 mg.; Coccidiostato, 150 mg.

TABLA Nº 2 - ENSAYO B-1

Valor nutritivo estimado de las dietas experi-
mentales.

PARAMETROS	Tratamientos				
	T-1	T-2	T-3	T-4	T-5
	0.00	0.00	2.50	5.00	7.50
CALORIAS MET.	3110,0	3110,0	3110,0	3110,0	3110,0
PROTEINA BRUTA, %	20,6	18,3	18,4	18,6	18,7
GRASA BRUTA, %	6,1	5,4	5,4	5,4	5,4
FIBRA BRUTA, %	1,8	1,8	1,8	1,7	1,6
CALCIO, %	0,9	0,9	0,9	0,9	0,9
FOSFORO TOTAL, %	0,6	0,6	0,6	0,6	0,6
XANTOFILAS AMARILLAS	2,4	0,0	10,9	21,9	32,9
XANTOFILAS NARANJA	13,5	14,7	14,7	14,7	14,7
XANTOFILAS TOTALES	15,9	14,7	25,6	36,6	47,6

TABLA Nº 3 - ENSAYO B-1

Contenido estimado en aminoácidos esenciales de las dietas experimentales.

	Tratamientos				
	T-1	T-2	T-3	T-4	T-5
	0,00	0,00	2,50	5,00	7,50
ARGININA	1,3779	1,1971	1,1893	1,1767	1,1638
LISINA	1,1258	0,9570	0,9570	0,9570	0,9570
METIONINA	0,4960	0,4040	0,4069	0,4106	0,4144
TRIPTOFANO	0,2473	0,2142	0,2185	0,2221	0,2257
GLICINA	0,9041	0,7860	0,8001	0,8148	0,8293
AZUFRADOS TOTALES	0,8148	0,6930	0,6930	0,6930	0,6930
TREONINA	0,8108	0,7209	0,7433	0,7655	0,7873

TABLA No 4 - ENSAYO B-1
Análisis real de las dietas experimentales

PARAMETROS	Tratamientos				
	T-1	T-2	T-3	T-4	T-5
	0,00	0,00	2,50	5,00	7,50
HUMEDAD, %	12,7	12,5	12,8	12,9	14,0
PROTEINA BRUTA, %	18,1	17,4	17,6	17,5	17,5
GRASA BRUTA, %	5,6	5,0	5,4	5,6	5,2
FIBRA BRUTA, %	3,2	3,2	3,6	3,9	3,6
CENIZAS, %	4,8	4,6	5,1	5,5	5,1
XANTÓFILAS, mg.	15,7	8,9	22,7	40,7	65,0

TABLA Nº 5 - ENSAYO B-1
Incremento de peso, consumo de pienso e índices de
conversión acumulados.

	Tratamientos					E.S.	F
	T-1	T-2	T-3	T-4	T-5		
	0.0	0.0	2.5	5.0	7.5		
<u>1er PERIODO</u>							
<u>15-21 días</u>							
Δ de peso (gr.)	135	128	129	132	130	± 4,10	N.S.
Consumo (gr.)	267	269	279	280	276	± 3,30	N.S.
I.C.	1,97	2,09	2,19	2,12	2,12	± 0,07	N.S.
<u>2º PERIODO</u>							
<u>15-35 días</u>							
Δ de peso (gr.)	655	645	626	636	612	± 11,90	N.S.
Consumo (gr.)	1129	1123	1095	1106	1063	± 17,07	N.S.
I.C.	1,72	1,73	1,74	1,74	1,73	± 0,36	N.S.
<u>3er PERIODO</u>							
<u>15-55 días</u>							
Δ de peso (gr.)	1685	1678	1577	1600	1569	± 22,30	* * (1)
Consumo (gr.)	3290	3313	3165	3235	3122	± 33,50	* * (1)
I.C.	1,95	1,97	2,00	2,02	1,99	± 0,21	N.S.

* P < 0,05

* * P < 0,01

N.S.: Datos no significativos

(1) : Test de Newman-Keules, comparación de medias; los resultados son diferentes de la forma siguiente:

T-1 y T-2 > T-3
 T-4
 T-5

TABLA Nº 6 - ENSAYO B-1
Peso vivo a distintas edades (gramos)

	Tratamientos					E.S.	F
	T-1	T-2	T-3	T-4	T-5		
	0.0	0.0	2.5	5.0	7.5		
Peso inicio prueba	213	205	200	203	200	± 5,4	N.S.
Peso 21 días	348	334	330	335	331	± 6,9	N.S.
Peso 35 días	869	851	828	840	812	± 14,6	N.S.
Peso 55 días	1897	1884	1885	1804	1769	± 23,5	* *

TABLA Nº 7 - ENSAYO B-1
Incrementos de peso, consumo de pienso e índices de
conversión parciales.

	Tratamientos					E.S.	F
	T-1	T-2	T-3	T-4	T-5		
	0.0	0.0	2.5	5.0	7.5		
<u>(21-35 días)</u>							
Δ de peso (gr.)	520	517	497	504	481	± 9,50	*
Consumo (gr.)	862	854	819	826	787	± 15,30	* †
I.C.	1,66	1,65	1,65	1,64	1,63	± 0,36	N.S.
<u>(35-55 días)</u>							
Δ de peso (gr.)	1028	1032	977	964	975	± 15,80	* †
Consumo	2160	2189	2135	2133	2058	± 26,25	† *
I.C.	2,10	2,12	2,18	2,21	2,15	± 0,30	N.S.

* Singnificativo P < 0,05

* * Singnificativo P < 0,01

N.S.: No significativo

TABLA Nº 8 - ENSAYO B-1
Pigmentación del tarso y de la piel a distintas
edades y al momento del sacrificio.

	Tratamientos					E.S.	F
	T-1	T-2	T-3	T-4	T-5		
35 días	5,9	6,0	7,3	8,6	8,7	± 0,28	* *
42 días	7,0	7,3	8,2	9,4	9,9	± 0,36	* *
55 días (1)	8,2c	9,5b	10,0b	11,7a	12,4a	± 0,25	* *
Sacrificio							
(piel) (2)	9,5	11,1	12,3	13,2	12,9		

(1) Datos medios diferentes según Test de Newman-Keules
a b c

(2) Medias de 10 pollos por tratamiento, la valoración se realizó
mediante la escala Roche.

TABLA Nº 9 - ENSAYO B-2
Composición de la dieta preexperimental

MAIZ	45,8
SORGO	12,0
SOJA-48%	33,7
PESCADO-65%	2,9
GRASA	2,7
CARBONATO CALCICO	0,34
FOSFATO BICALCICO	1,7
SAL	0,5
CLORURO DE COLINA-50%	0,04
METIONINA-DL 98%	0,146
CORRECTOR (1)	0,20

. 100,00

(1) Composición del corrector vitamínico mineral aportado por kilo de pienso completo: Vit. A, 9.000 UI; Vit. D; 2.000 UI; Vit. K, 3,8 mg.; Vit E, 10,0 mg.; Vit B₂, 8,0 mg.; Ac. Pan., 15,0 mg.; Ac. Nic., 40,0 mg.; Vit B₁₂, 15 mg.; Mn 65 mg.; Fe, 40 mg.; Zn, 100 mg.; Cu, 4,5 mg.; I, 0,76 mg.; Co, 0,4 mg.; Etoxiquin 125 mg.

TABLA Nº 10 - ENSAYO B-2
Valor nutritivo estimado de la dieta
preexperimental.

CALORIAS METABOLIZABLES	3030,00
PROTEINA BRUTA, %	23,10
GRASA, %	5,60
FIBRA, %	2,02
CALCIO, %	0,80
FOSFORO ASIMILABLE, %	0,45
FOSFORO TOTAL, %	0,70

TABLA Nº 11 - ENSAYO B-2

Composición de las dietas experimentales

INGREDIENTE	Tratamiento		
	T-1	T-2	T-3
	0.00	3.75	7.50
MAIZ-USA	60,07	61,83	62,96
SOJA-48 %	26,08	21,85	17,96
PESCADO-60 %	3,00	3,00	3,00
SUBPROD. MATADERO	3,00	3,00	3,00
GRASA	3,33	3,39	3,08
CARBONATO CALCICO	0,81	0,46	0,10
FOSFATO BICALCICO	1,31	1,29	1,26
SULFATO SODICO	0,10	0,10	0,10
SAL	0,45	0,38	0,31
CLORURO DE COLINA 50 %	0,05	0,07	0,10
METIONINA DL 98 %	0,19	0,19	0,18
LISINA HCL 98 %	0,07	0,09	0,11
GLICINA	0,02	0,11	0,20
HARINA DE MARIGOLD	0,44	0,03	0,00
CORRECTOR (1)	0,25	0,25	0,25
PROPIONATO CALCICO	0,20	0,20	0,20
BAYONOX (2)	0,02	0,02	0,02
C.P.F.	0,00	3,75	7,50

(1) : ver tabla nº 9

(2) : (10 % de Olaquinox) ; Marca comercial registrada por el Instituto Terapeutico Bayer S.A.

TABLA Nº 12 - ENSAYO B-2

Valor nutritivo estimado de las dietas experimentales

PARAMETROS	Tratamientos		
	T-1	T-2	T-3
	0.00	3.75	7.50
CALORIAS METABOL:	3150,00	3150,00	3150,00
PROTEINA BRUTA %	22,00	22,00	22,00
GRASA BRUTA %	7,55	7,19	7,07
FIBRA BRUTA %	1,78	1,61	1,53
CENIZAS %	5,85	5,77	5,68
CALCIO %	0,90	0,90	0,90
FOSFORO ASIMILABLE	0,45	0,45	0,45
FOSFORO TOTAL	0,67	0,66	0,67
XANTOFILAS AMARILLAS mg.	39,09	38,99	59,22
XANTOFILAS NARANJAS mg.	3,90	4,01	4,09
XANTOFILAS TOTALES mg.	43,00	43,00	63,31

TABLA Nº 13 - ENSAYO B-2

Contenido en aminoácidos esenciales (% de la dieta)

	Tratamientos		
	T-1	T-2	T-3
	0.00	3.75	7.50
ARGININA	1,497	1,456	1,412
GLICINA	1,080	1,080	1,080
METIONINA	0,515	0,523	0,532
METIONINA + CISTINA	0,870	0,870	0,870
LISINA	1,240	1,240	1,240
TRIPTOFANO	0,261	0,262	0,264
TREONINA	0,828	0,851	0,871

TABLA Nº 14 - ENSAYO B-2

Ganancias de peso, consumo de pienso e
Índices de conversión periodo preesperi-
mental.

Tratamientos				
T-1	T-2	T-3	E.S.	F
0.0	3.75	7.50		

0-21 días de eadd

Peso vivo (gr.)	469	471	469	± 4,0	N.S.
Consumo (gr.)	746	745	748	± 3,0	N.S.
I.C.	1,58	1,58	1,58	± 0,0	N.S.

N.S.: Datos no significativos

TABLA Nº 15 - ENSAYO B-2

Ganancias de peso, consumo de pienso e índices de conversión parciales y acumulados.

	Tratamientos			T. Pienso				Interacción		
	T-1	T-2	T-3	E.S.	F	G	H	F	F	F
	0.0	3.75	7.50							
<u>Periodo experimental</u>										
<u>21-51 días de edad</u>										
Ganancia peso vivo (gr.)	1377	1414	1411	± 23,00	N.S.	1446	1355	*	*	N.S.
Consumo (gr.)	3307	3436	3374	± 37,00	N.S.	3317	3427	*	*	N.S.
I.C.	2,40	2,43	2,39	± 0,03	N.S.	2,29	2,52	*	*	N.S.
<u>0-51 días de edad</u>										
Peso vivo (gr.)	1847	1886	1881	± 22,00	N.S.	1916	1826	*	*	N.S.
Consumo (gr.)	4060	4192	4130	± 40,00	N.S.	4070	4178	*	*	N.S.
I.C.	2,20	2,22	2,20	± 0,02	N.S.	2,13	2,21	*	*	N.S.

* P < 0,05

* * P < 0,01

N.S.: Datos no significativos

G : Pienso granulado

H : Pienso en harina

I
2
8
I

TABLA Nº 16 - ENSAYO B-2

Valoración de la pigmentación del tarso por el abanico Roche a los 35, 42 y 49 días de ensayo (5% de la población).

	Tratamientos			E.S.	F	T.Pienso				Interac.
	T-1	T-2	T-2			F	G	H	F	
1er control (35 días)	5,16	5,57	6,10	± 0,26	N.S.	5,80	5,42	N.S.	N.S.	
2º control (42 días)	6,02a	7,10b	7,55b	± 0,23	* *	6,96	6,81	N.S.	N.S.	
3er control (49 días)	7,30a	8,05b	8,67b	± 0,25	* *	8,03	7,98	N.S.	N.S.	

(a) y (b): Datos medios diferentes (test Newman-Keules)

TABLA Nº 17 - ENSAYO B-2

Valoración de la pigmentación del tarso y dorso de la canal por contrastación visual con el abanico Roche (10% de la población).

	Tratamientos			E.S.	T. Pienso			Interac.		
	T-1	T-2	T-3		F	G	H		F	F
Tarso (canal)	6,53a	8,74b	8,82b	± 0,23	*	*	7,92	8,14	N.S.	N.S.
Color piel (canal)	4,61a	7,00b	7,28b	± 0,18	*	*	6,35	6,30	N.S.	N.S.

P < 0,01 * *

N.S. : Datos no significativos

G : Pienso granulado

H : Pienso en harina

TABLA Nº 18 - ENSAYO B-2
Valoración química (método A.O.A.C.) de la pigmentación aportada
por el pienso y acumulada en los tarsos.

	Tratamientos		
	T-1	T-2	T-3
<u>Pienso</u>			
Carotenos mg./kgr.	0,0	5,4	15,0
Xantofilas (dihidroxi)	24,1	36,8	47,6
<u>Tarsos</u>			
Xantofilas acumuladas (dihidroxi) mg./kgr.	15,5	31,9	53,3

TABLA No 19 - ENSAYO G-1

Composición de las dietas experimentales

INGREDIENTES	Tratamientos				
	T-1	T-2	T-3	T-4	T-5
	0.0	2.5	5.0	7.5	10.0
MAIZ USA	69,0	69,5	69,9	70,4	70,8
SOJA 48%	20,0	17,5	15,0	12,5	10,0
C.P.F.	0,0	2,5	5,0	7,5	10,0
CARBONATO CALCICO	7,4	7,1	6,9	6,7	6,5
FOSFATO BICALCICO	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5
SALI	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
GRASA	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4
CLORURO COLINA 50%	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
DL-METIONINA 98%	0,08	0,08	0,08	0,08	0,08
HNA DE MARIGOLD	0,92	0,67	0,46	0,22	0,00
CORRECTOR (1)	0,40	0,40	0,40	0,40	0,40
	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00

(1) Composición del corrector vitamínico-mineral aportado por un kilo de pienso: Vit. A, 7000 U.I.; Vit. D, 2000 U.I.; Vit E, 1,0 mg; Vit. K, 1,88 mg; Riboflavina, 4,00 mg; Vit B₁₂, 12 ug; Acido Pan., 8,0 mg; Acido Nic., 8,0 mg; Mn, 43,4 mg; Fe, 27,0 mg; Cu, 3,12 mg; I, 0,5 mg; Co, 0,26 mg; Se, 0,06 mg; Etoxiquin 125 mg.

TABLA Nº 20 - ENSAYO G-1

Valor nutritivo estimado de las dietas experimentales.

PARAMETROS	Tratamientos				
	T-1	T-2	T-3	T-4	T-5
	0.0	2.5	5.0	7.5	10.0
CALORIAS METAB. /kg.	2845	2865	2884	2906	2924
PROTEINA BRUTA, %	16,00	16,10	16,10	16,20	16,20
CALCIO, %	3,30	3,30	3,30	3,30	3,30
FOSFORO TOTAL, %	0,34	0,36	0,38	0,40	0,42
XANTOFILAS AMAR., mg.	54,30	54,30	54,30	54,30	54,30
XANTOFILAS NAR., mg.	15,13	15,30	15,30	15,50	15,50

TABLA 21 - ENSAYO G-1
Contenido en aminoácidos esenciales de las dietas
experimentales.

	Tratamientos				
	T-1	T-2	T-3	T-4	T-5
ARGININA	1,059	1,039	1,020	1,001	0,982
LISINA	0,783	0,782	0,782	0,781	0,781
METIONINA	0,335	0,342	0,350	0,357	0,326
TRIPTOFANO	0,186	0,186	0,187	0,188	0,189
MET. + CISTINA	0,593	0,594	0,595	0,596	0,597

TABLA Nº 22 - ENSAYO G-1
Análisis químico de los piensos experimentales

	Tratamientos				
	T-1	T-2	T-3	T-4	T-5
	0.0	2.5	5.0	7.5	10.0
PROTEINA BRUTA, %	15,9	15,9	14,5	14,5	14,7
CENIZAS, %	9,4	10,0	9,3	10,2	10,8
CALCIO, %	4,0	3,9	3,7	4,0	4,0
CAROTENOS, p.p.m.	13,2	12,5	9,4	7,7	4,3
XANT. TOTALES, p.p.m.	50,0	42,6	42,0	42,7	39,8

TABLA No 23 - ENSAYO G-1

Resultados acumulados correspondientes a la fase experimental de
109 días

	Tratamientos						F.
	T-1	T-2	T-3	T-4	T-5	E.S.	
	0.0	2.5	5.0	7.5	10.0		
Peso aves inicio (gr.)	1670,00	1706,00	1698,00	1525,00	1497,00		
Peso aves final (gr.)	1772,00	1705,00	1780,00	1595,00	1553,00		
Var. peso medio (gr.)	101,00	1,00	81,00	70,00	55,00		
Consumo medio diar. (gr.)	108,00	112,00	110,00	106,00	97,00	± 2,14	* *
Indice de puesta (%)	72,20	83,80	81,70	83,10	76,00	± 2,55	N.S.
Indice de conversión	1,85	1,62	1,60	1,56	1,57	± 0,06	*
Peso del huevo (gr.)	66,50	67,20	66,20	65,80	64,10	± 0,62	* *
Albumen (U. Haugh)	79,80	81,20	80,30	79,60	80,70	± 1,40	N.S.
Color yema (a)	13,40	13,10	12,00	11,70	11,20	± 0,15	* *
Espesor cáscara (m.m.)	0,329	0,329	0,327	0,335	0,336	± 0,00	

* : P < 0,05

* * : P < 0.01

N.S. : datos no significativos

(a) : grados del abanico Roche-Hoffman (0-15)

TABLA No 24 - ENSAYO G-1

Porcentaje de puesta al inicio y final del ensayo

	<u>Tratamientos</u>				
	<u>T-1</u>	<u>T-2</u>	<u>T-3</u>	<u>T-4</u>	<u>T-5</u>
	<u>0.0</u>	<u>2.5</u>	<u>5.0</u>	<u>7.5</u>	<u>10.0</u>
Indice de puesta (11 dias) %	73,4	91,6	87,6	84,0	84,8
Indice de puesta (109 dias)	74,9	81,5	75,0	83,3	61,8
Variación indice de puesta	+ 1,5	-10,1	-12,6	- 0,7	-23,0

TABLA Nº 25 ENSAYO G-1
Peso del huevo al inicio y al final del ensayo
(gr)

	Tratamientos				
	T-1	T-2	T-3	T-4	T-5
	0.0	2.5	5.0	7.5	10.0
Peso del huevo (gr.) (11 días)	65,0	65,8	64,8	65,6	65,1
Peso del huevo (gr.) (109 días)	68,5	68,6	67,1	66,6	64,1
Variación peso del huevo	+ 3,5	+ 2,8	+ 2,3	+ 1,0	- 1,0

TABLA Nº 26 - ENSAYO G-1

Resultados correspondientes a los primeros once días de ensayo

	Tratamientos					F.
	T-1	T-2	T-3	T-4	T-5	
	0.0	2.5	5.0	7.5	10.0	
Consumo medio diar. (gr.)	111,00	115,00	114,00	103,00	99,00	* *
Índice de puesta (%)	73,40	91,60	87,60	84,00	84,80	* *
Índice de conversión	1,54	1,50	1,65	1,47	1,41	* 0,15 N.S.
Peso del huevo (gr.)	65,10	65,80	64,80	65,60	65,10	* 1,14 N.S.
Albumen (U. Haugh)	81,80	83,00	79,10	79,80	80,70	* 1,89 N.S.
Espesor cáscara (m.m.)	0,328	0,317	0,329	0,336	0,328	* 0,00 N.S.

* : $P < 0,05$

* * : $P < 0,01$

N.S. : datos no significativos

TABLA Nº 27 - ENSAYO G-1

Resultados correspondientes a los treinta y nueve días de ensayo

	Tratamientos					F.
	T-1	T-2	T-3	T-4	T-5	
	0.0	2.5	5.0	7.5	10.0	
Consumo medio diar. (gr.)	111,00	116,00	113,00	108,00	100,00	± 3,04 N.S.
Indice de puesta (%)	76,40	83,80	83,80	84,10	82,90	± 2,81 N.S.
Indice de conversión	1,73	1,54	1,55	1,55	1,45	± 0,04 *
Peso medio huevo (gr.)	65,20	67,10	66,20	65,60	64,80	± 1,16 N.S.
Albumen (U. Haugh)	78,20	78,30	78,40	79,10	79,10	± 1,60 N.S.
Espesor cáscara (m.m.)	0,321	0,321	0,328	0,331	0,332	± 0,00 N.S.

* : $P < 0,05$

** : $P < 0,01$

N.S.: datos no significativos

TABLA Nº 28 - ENSAYO G-1

Resultados correspondientes a los sesenta y siete días de ensayo

	Tratamientos						F.
	T-1	T-2	T-3	T-4	T-5	E.S.	
	0.0	2.5	5.0	7.5	10.0		
Consumo medio diar. (gr.)	99,00	106,00	108,00	104,00	99,00	± 1,81	* *
Indice de puesta (%)	72,80	82,30	82,00	83,80	82,10	± 2,88	N.S.
Indice de conversión	1,65	1,56	1,58	1,53	1,45	± 0,05	N.S.
Peso del huevo (gr.)	67,40	67,40	66,30	67,90	64,80	± 1,22	N.S.
Albumen (U. Haugh)	77,70	76,20	77,20	77,50	80,70	± 2,16	N.S.
Color yema (a)	13,60	13,50	11,50	11,70	11,40	± 0,20	* *
Espesor cáscara (m.m.)	0,329	0,319	0,327	0,338	0,336	± 0,00	N.S.

* : $P < 0,05$

* * : $P < 0,01$

N.S.: datos no significativos

(a) : grados del abanico Roche (0-15)

TABLA Nº 29 - ENSAYO G-1

Resultados correspondientes a los noventa y cinco días de ensayo

	Tratamientos					F.
	T-1	T-2	T-3	T-4	T-5	
	0.0	2.5	5.0	7.5	10.0	
Consumo medio diar. (gr.)	108,30	113,00	108,90	107,70	90,70	± 4,55 *
Indice de puesta (%)	65,90	82,30	78,80	83,20	65,70	± 4,29 *
Indice de conversión	2,00	1,65	1,67	1,55	1,63	± 0,08 **
Peso del huevo (gr)	66,70	67,20	66,10	64,70	63,10	± 1,17 N.S.
Albumen (U. Haugh)	80,80	83,30	79,80	80,20	81,40	± 1,76 N.S.
Color yema (a)	13,30	12,80	12,30	11,60	10,90	± 0,15 **
Espesor cáscara (m.m.)	0,335	0,334	0,334	0,337	0,339	± 0,00 N.S.

* : P < 0,05

** : P < 0,01

N.S. : datos no significativos

(a) : grados del abanico Roche (0-15)

TABLA N° 30 - ENSAYO G-1

Resultados correspondientes a los últimos catorce días de ensayo

	Tratamientos					F.
	T-1	T-2	T-3	T-4	T-5	
	0.0	2.5	5.0	7.5	10.0	
Consumo medio diar. (gr.)	120,10	118,10	115,60	112,40	101,20	* 1,80 *
Índice de puesta (%)	74,90	81,50	76,70	83,30	61,80	* 5,22 *
Índice de conversión	2,14	1,74	1,83	1,64	2,11	* 0,16 N.S.
Peso del huevo (gr.)	68,50	68,60	67,10	66,60	64,10	* 1,36 N.S.
Albumen (U. Haugh)	83,40	84,40	85,00	83,30	82,30	* 1,61 N.S.
Color yema (a)	13,20	12,90	12,60	11,80	11,40	* 0,27 *
Espesor cáscara	0,333	0,326	0,319	0,333	0,345	* 0,00 N.S.

* : $P < 0,05$

* * : $P < 0,01$

N.S.: datos no significativos

(a) : grados del abanico Roche (0-15)

TABLA No 31 - ENSAYO G-2
Composición de las dietas experimentales

INGREDIENTES	Tratamientos				
	T-1	T-2	T-3	T-4	T-5
MAIZ-USA	10,00	10,00	10,00	10,00	10,00
CEBADA	39,44	39,09	38,66	39,13	38,76
SORGO	20,00	20,00	20,00	20,00	20,00
SOJA-58%	11,58	11,52	11,46	8,35	4,69
GIRASOL-37%	2,75	2,79	2,84	4,09	5,62
HARINA DE CARNE-55%	4,00	4,00	4,00	4,00	4,00
CARBONATO CALCICO	6,69	6,68	6,68	6,55	6,39
FOSFATO BICALCICO	0,41	0,41	0,41	0,40	0,39
SAL	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25
SULFATO SODICO	0,09	0,09	0,09	0,10	0,09
CLORURO DE COLINA-50%	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05
GRASA	4,30	4,43	4,57	4,24	4,18
METIONINA-DL 98%	0,04	0,03	0,03	0,02	0,01
HNA. DE MARIGOLD	-	0,26	0,56	-	-
C.P.F.	-	-	-	2,42	5,17
CORRECTOR (1)	0,40	0,40	0,40	0,40	0,40
	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00

(1) Composición del corrector vitamínico mineral aportado por un kilo de pienso: Vit. A, 7000 UI; Vit D₃, 2000 UI; Vit. E, 1.0 mg.; Vit. K, 1.88 mg.; Riboflavina, 4.0 mg.; Vit. B₁₂, 12.0 ug; Ac. Pantotenico, 8.0 mg.; Ac. Nicotínico, 8.0 mg.; Etoxiquin, 125 mg.; Mn, 43.4 mg.; Fe, 27.0 mg.; Zn, 48.0 mg.; I, 0.50 mg.; Co, 0.26 mg.; Se, 0.26 mg.; Bacitracina, 10.0 mg.

TABLA Nº 32 - ENSAYO G-2

Valor nutritivo estimado de las dietas experimentales.

	Tratamientos				
	T-1	T-2	T-3	T-4	T-5
CALORIAS METAB./kg.	2750,00	2750,00	2750,00	2750,00	2750,00
PROTEINA BRUTA, %	16,36	16,33	16,30	16,45	16,56
CALCIO, %	3,00	3,00	3,00	3,00	3,00
FOSFORO TOTAL, %	0,50	0,50	0,50	0,51	0,51
FOSFORO INORGANICO, %	0,30	0,30	0,30	0,30	0,30
AC. LINOLEICO, %	0,79	0,79	0,79	0,83	0,89
GRASA, %	4,30	4,43	4,57	4,24	4,18
ARGININA, %	0,90	0,90	0,90	0,90	0,90
LISINA, %	0,70	0,70	0,70	0,70	0,70
METIONINA, %	0,31	0,32	0,32	0,32	0,32
MET. + CISTINA, %	0,56	0,56	0,56	0,56	0,56
TRIPTOFANO, %	0,17	0,17	0,17	0,17	0,17
GLICINA, %	0,80	0,80	0,80	0,83	0,85
XANTO.AMARILLAS, mg.	1,80	15,00	30,00	15,00	30,00
XANTOFILAS TOTALES, mg.	1,80	15,00	30,00	15,00	30,00

TABLA Nº 33 - ENSAYO G-2

Análisis real de las dietas experimentales

PARAMETROS	Tratamientos				
	T-1	T-2	T-3	T-4	T-5
HUMEDAD %	9,7	9,5	9,2	9,1	8,1
PROTEINA BRUTA %	15,9	15,4	15,6	16,1	16,3
GRASA BRUTA %	3,6	3,5	3,9	4,0	3,5
FIBRA BRUTA %	4,4	3,9	4,2	4,3	4,7
CENIZAS %	7,7	7,4	7,8	8,3	8,6
XANTOFILAS, p. p.m.	6,6	12,1	24,7	13,4	21,6
CAROTENOS, p. p.m.	1,0	0,9	1,3	4,0	7,3

TABLA Nº 34 - ENSAYO G-2
Resultados fase preexperimental

	Tratamientos					E.S.	F.
	T-1	T-2	T-3	T-4	T-5		
Indice de puesta (%)	84,40	86,00	85,50	87,70	86,60	±0,48	N.S.
Peso aves inicio (Kg)	1,32	1,40	1,44	1,33	1,30	±0,05	N.S.
Color yema (a)	4,00	4,00	4,00	4,00	4,00	±0,00	N.S.

N.S. : Datos no significativos

(a) : grados del abanico Roche (0-15)

TABLA No 35 - ENSAYO G-2

Resultados correspondientes a los primeros catorce días de ensayo

	Tratamientos					F.
	T-1	T-2	T-3	T-4	T-5	
Consumo medio diar. (gr.)	103,00	93,80	97,50	98,10	93,80	± 4,46 N.S.
Indice de puesta (%)	85,70	82,10	80,70	87,80	82,10	± 0,32 N.S.
Peso del huevo (gr.)	58,00	59,50	60,50	56,2	59,00	± 1,56 N.S.
Albumen (U. Haugh)	86,30	86,90	85,30	84,80	84,70	± 1,56 N.S.
Color yema (a)	4,54	5,51	7,25	7,60	9,05	± 0,37 * *
Espesor cáscara (m.m.)	0,335	0,350	0,339	0,353	0,358	± 0,007 N.S.

N.S. : Datos no significativos

* * : $P < 0,01$

(a) : grados del abanico Roche-Hoffman (0-15)

Test de Newman-Keules sobre el color de la yema :

T-5 > (T-4, T-3, T-2, T-1) T-3 > (T-1, T-2) T-4 > (T-1, T-2)

TABLA Nº 36 - ENSAYO G-2

Resultados correspondientes a los últimos catorce días de ensayo

	Tratamientos					F.	
	T-1	T-2	T-3	T-4	T-5		E.S.
Consumo medio diar. (gr.)	102,20	98,50	101,80	95,80	94,70	± 3,88	N.S.
Índice de puesta (%)	84,30	86,40	82,10	87,80	80,70	± 0,32	N.S.
Peso del huevo (gr.)	60,00	59,20	61,20	58,80	58,80	± 1,22	N.S.
Albumen (U. Haugh)	90,04	86,40	84,80	91,40	85,60	± 2,26	N.S.
Color yema (a)	4,38	6,39	8,45	7,81	10,84	± 0,56	*
Espesor cáscara (m.m.)	0,344	0,346	0,353	0,361	0,363	± 0,007	N.S.

N.S. : datos no significativos

* : $P < 0,01$

(a) : grados del abanico Roche-Hoffman (0-15)

Test de Newman-Keules sobre el color de la yema :

T-5 > (T-1, T-2, T-3, T-4) T-3 > (T-1, T-2) T-4 > T-1
 T-2 > T-1

TABLA N° 37 - ENSAYO G-2

Consumo de pienso, índice de puesta e índice de conversión acumulados

	Tratamientos					F.
	T-1	T-2	T-3	T-4	T-5	
Consumo medio diar. (gr.)	102,60	96,10	99,70	96,20	94,20	± 3,67 N.S.
Índice de puesta (%)	85,10	84,50	81,50	88,10	81,50	± 0,49 N.S.
Índice de conversión	1,45	1,37	1,47	1,34	1,41	± 0,17 N.S.

TABLA N^o 38 - ENSAYO G-2

Valoración química (método A.O.A.C.) de la pigmentación existente en la yema del huevo

	Tratamientos				
	T-1	T-2	T-3	T-4	T-5
1 ^o Control					
mg./Kg. (b)	9,41	12,91	20,65	23,92	30,33
2 ^o Control					
mg./Kg. (b)	6,63	12,36	16,72	20,56	26,24
Preexperimental					
mg./Kg. (a)	8,01	-	-	-	-

(a) : datos medios de una muestra de ocho huevos obtenidos al azar al final del periodo preexperimental.

(b) : dato medio de una muestra de cuatro huevos por tratamiento

TABLA Nº 39 - ENSAYO G-2

Niveles de pigmentación de los huevos en diferentes periodos del ensayo

	Tratamientos				
	T-1	T-2	T-3	T-4	T-5
Preexperimental	4,00	4,00	4,00	4,00	4,00
1º Control					
14 días de ensayo	4,54	5,51	7,25	7,60	9,05
Incremento	0,54	1,51	3,25	3,60	5,05
2º Control					
28 días de ensayo	4,38	6,39	8,45	7,81	10,84
Incremento	0,38	2,39	4,45	3,81	6,84

Indice de proporcionalidad entre la pigmentación aportada por el Concentrado de Proteina Foliar y la Harina de Marigold, a niveles identicos , viene reflejado por la siguiente fracción :

$$I = \frac{\text{Incr. de pigmentación del C.P.F.}}{\text{Incr. de pigmentación de la Harina de Marigold}}$$

1º Control :

$$I (15 \text{ p.p.m.}) = \frac{3,60}{1,51} \cong 2,38$$

$$I (30 \text{ p.p.m.}) = \frac{5,05}{3,25} = 1,55$$

2º Control :

$$I (15 \text{ p.p.m.}) = \frac{3,81}{2,39} = 1,59 ; I (30 \text{ p.p.m.}) = \frac{6,84}{4,45} = 1,53$$

TABLA Nº 40 - ENSAYO G-3

Composición de las dietas experimentales

INGREDIENTES	Tratamientos				
	T-1	T-2	T-3	T-4	T-5
	0.00	3.75	7.50	10.00	14.00
MAIZ-USA	60,90	57,26	56,46	56,28	56,97
SORGO	6,00	6,00	6,00	6,00	6,00
CEBADA	0,00	5,35	6,00	6,00	4,59
SOJA-48%	14,30	10,22	5,34	2,50	0,00
C.P.F.	0,00	3,75	7,50	10,00	14,00
GIRASOL-38%	7,83	6,00	7,69	8,00	6,00
HARINA DE CARNE-55%	1,19	2,05	1,82	1,89	2,07
GRASA	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00
CARBONATO CALCICO	6,90	6,64	6,44	6,59	7,62
FOSFATO BICALCICO	1,12	1,00	1,02	1,01	1,01
SAL	0,34	0,33	0,33	0,33	0,34
HARINA DE MARIGOLD	0,02	0,00	0,00	0,00	0,00
CORRECTOR (1)	0,40	0,40	0,40	0,40	0,40
	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00

(1) Composición del corrector vitaminico mineral aportado por un kilo de pienso : Vit. A, 7000 UI; Vit.D₃ , 2000 UI; Vit. E, 1.0 mg.; Vit. K 1.88 mg.; Riboflavina, 4.0 mg.; Vit. B₁₂, 12.0 ug; Ac. Panto-tenico, 8.0 mg.; Ac. Nicotnico, 8.0 mg.; Etoxiquin, 125 mg.; Mn., 43.3 mg.; Fe. 27.0 mg.; Zn., 48.0 mg.; I., 0.5 mg.; Co., 0.26 mg.; Se., 0.26 mg.; Bacitracina, 10.0 mg..

TABLA Nº 41 - ENSAYO G-3

Valor nutritivo estimado de las dietas experimentales

PARAMETROS	Tratamientos				
	T-1	T-2	T-3	T-4	T-5
	0.00	3.75	7.50	10.00	14.00
CALORIAS METAB. /kg.	2850,00	2850,00	2850,00	2850,00	2850,00
PROTEINA BRUTA %	16,39	16,39	16,39	16,39	16,39
GRASA %	3,86	4,13	4,29	4,43	4,67
FIBRA %	3,52	3,48	3,72	3,75	3,41
CENIZAS %	10,51	10,41	10,46	10,74	11,89
CALCIO %	3,10	3,10	3,10	3,21	3,70
FOSFORO ASIMILABLE %	0,34	0,34	0,34	0,34	0,34
FOSFORO TOTAL %	0,57	0,57	0,57	0,57	0,57
LINOLEICO %	1,46	1,45	1,51	1,55	1,63
XANTOFILAS TOTALES, mg.	12,00	30,73	51,03	64,62	86,55

TABLA Nº 42 - ENSAYO G-3

Contenido estimado en aminoácidos de las dietas
experimentales

	Tratamientos				
	T-1	T-2	T-3	T-4	T-5
	0,00	3,75	7,50	10,00	14,00
ARGININA	1,060	1,016	1,003	0,992	0,977
LISINA	0,768	0,774	0,768	0,770	0,803
METIONINA	0,325	0,327	0,345	0,353	0,360
TRIPTOFANO	0,170	0,170	0,170	0,170	0,173
AZUFRADOS TOTALES	0,600	0,593	0,606	0,611	0,612

TABLA Nº 43 - ENSAYO G-3

Resultados acumulados correspondientes a la fase experimental de 98 días

	Tratamientos					F.
	T-1	T-2	T-3	T-4	T-5	
	0.00	3.75	7.50	10.00	14.00	E.S.
Peso aves inicio (gr.)	1583,00	1617,00	1683,00	1582,00	1592,00	
Peso aves final (gr.)	1619,00	1715,00	1801,00	1689,00	1689,00	± 70,30 N.S.
Consumo medio diar.(gr.)	95,90	101,20	98,60	99,20	101,30	± 0,45 N.S.
Indice de puesta (%)	76,00	87,40	83,80	84,40	84,00	± 2,80 N.S.
Indice de conversión	1,53	1,37	1,39	1,39	1,45	± 0,42 N.S.
Peso del huevo (gr.)	57,50	58,20	58,30	56,50	57,30	± 0,74 N.S.
Albumen (U. Haugh)	86,80	86,80	85,50	84,40	86,00	± 0,96 N.S.
Color yema (a)	10,42a	11,60b	12,31bc	12,53bc	12,82c	± 0,26 * †
Espesor cáscara (m.m.)	0,330	0,330	0,338	0,329	0,340	± 0,006 N.S.

* † : $P < 0,01$

N.S. : datos no significativos

(a) ; grados del abanico Roche (0-15)

a, b, c, : datos medios diferentes según Test de Newman-Keules

TABLA No 44 - ENSAYO G-3

Consumo medio diario de las diferentes replicas
 y en distintos periodos del ensayo por los tratamientos
 T-1, T-2

Tratamiento T-1	Replica			
	1	2	3	4
1q	104,4	108,3	100,1	98,8
2q	103,8	105,3	103,4	101,2
3q	80,2	99,7	98,5	82,3
4q	51,8	98,8	97,8	54,6
5q	75,4	101,1	91,1	94,3
6q	96,6	109,9	104,5	103,9
7q	109,2	107,0	102,7	102,7
Acumulado	88,7	104,3	99,7	91,1
Tratamiento T-2				
1q	104,5	94,6	105,0	101,0
2q	104,1	100,0	108,9	113,2
3q	102,4	97,8	102,1	100,9
4q	107,9	103,5	100,0	99,0
5q	102,4	94,6	99,4	86,1
6q	92,6	101,8	101,8	99,5
7q	106,2	102,6	94,0	108,9
Acumulado	102,8	99,2	101,6	101,2

\bar{X} : 95,9
 Σx : 383,8
 Σx^2 : 36985,48

\bar{X} : 101,2
 Σx : 404,8
 Σx^2 : 40972,48

TABLA Nº 45 - ENSAYO G-3

Consumo medio diario de las diferentes replicas y
en distintos periodos del ensayo por los tratamientos

T-3, T-4

Periodo	Replica			
	1	2	3	4
1º	102,8	97,2	103,2	107,8
2º	100,5	90,8	96,6	108,0
3º	102,2	92,5	96,7	101,6
4º	101,3	93,2	87,5	95,5
5º	102,7	96,3	82,8	89,5
6º	104,8	99,6	92,7	100,9
7º	109,3	96,8	93,1	115,5
Acumulado	103,3	95,2	93,2	102,7
$\bar{x} : 98,6$ $\sum x : 394,4$ $\sum x^2 : 38967,40$				
Tratamiento T-4				
1º	96,3	105,2	99,0	102,3
2º	93,2	101,5	96,8	97,5
3º	97,5	103,7	102,9	103,0
4º	98,9	106,9	100,6	98,4
5º	92,7	94,3	87,5	81,4
6º	95,9	105,3	101,2	102,7
7º	99,9	108,5	105,1	101,7
Acumulado	96,3	103,6	99,0	98,1
$\bar{x} : 99,2$ $\sum x : 397,0$ $\sum x^2 : 39431,26$				

TABLA Nº 46 - ENSAYO G-3

Consumo medio diario de las diferentes replicas y
en distintos periodos del ensayo por el tratamiento

T-5

Tratamiento T-5

Periodo	Replica			
	1	2	3	4
1Q	91,3	105,4	107,7	97,0
2Q	93,5	104,9	102,5	117,6
3Q	93,3	103,0	95,8	101,4
4Q	122,3	93,4	91,4	99,6
5Q	92,0	101,5	101,1	98,9
6Q	94,2	109,0	109,3	110,1
7Q	113,2	87,5	89,4	110,1
Acumulado	99,9	100,7	99,6	104,9

$\bar{X} : 101,3$
 $\Sigma x : 405,1$
 $\Sigma x^2 : 41044,60$

TABLA N^o 47 - ENSAYO G-3

Indice de puesta de las diferentes replicas y en distintos periodos del ensayo por los tratamientos

T-1, T-2		Replica				Σx : 304,0	Σx ² : 23501,0
Periodo	1	2	3	4			
Tratamiento T-1							
1 ^o	89,3	90,0	85,3	88,0			
2 ^o	89,2	90,0	78,5	89,3			
3 ^o	76,4	87,1	88,5	80,7			
4 ^o	21,4	92,8	88,5	29,3			
5 ^o	43,2	80,7	82,1	30,9			
6 ^o	65,8	80,7	82,1	68,2			
7 ^o	76,2	85,7	87,3	76,9			
Acumulado	65,9	86,7	85,2	66,2			
Tratamiento T-2							
1 ^o	88,0	91,3	90,6	89,3			
2 ^o	87,8	94,3	92,8	90,7			
3 ^o	88,5	90,7	90,0	88,5			
4 ^o	87,8	95,7	92,1	87,1			
5 ^o	88,6	85,0	82,1	72,8			
6 ^o	85,0	89,3	87,1	68,7			
7 ^o	79,2	87,8	88,5	90,1			
	86,4	90,6	89,0	83,8			

TABLA NQ 48 - ENSAYO G-3

Indice de puesta de las diferentes replicas y en
distintos periodos del ensayo por los tratamientos
T-3, T-4

Periodo	Replica			
	1	2	3	4
1Q	87,3	88,0	88,0	88,0
2Q	88,5	84,7	86,4	92,8
3Q	88,5	79,3	85,0	84,3
4Q	85,0	83,3	87,8	78,9
5Q	82,1	86,4	75,0	77,7
6Q	84,3	82,8	71,4	87,5
7Q	82,1	85,0	71,4	84,8
Acumulado	85,4	84,3	80,7	84,9
<u>Tratamiento T-4</u>				
1Q	86,0	88,0	86,6	92,6
2Q	87,1	88,5	86,4	87,8
3Q	90,0	88,5	83,6	87,8
4Q	85,7	87,8	84,3	83,0
5Q	82,1	82,1	80,2	72,2
6Q	84,3	84,3	77,7	71,4
7Q	80,7	82,8	83,3	89,7
Acumulado	85,1	86,0	83,1	83,5

$\bar{X} : 83,8$
 $\{x : 335,3$
 $\{x^2 : 28120,1$

$\bar{X} : 84,4$
 $\{x : 337,7$
 $\{x^2 : 28515,80$

TABLA Nº 49 - ENSAYO G-3

Indice de puesta de las diferentes replica y en
distintos periodos del ensayo por el tratamiento

T-5

Tratamiento T-5 Periodo	Replica			
	1	2	3	4
1º	82,0	92,0	86,0	88,0
2º	85,7	94,3	90,0	92,1
3º	79,3	92,1	85,0	87,1
4º	82,8	90,7	85,2	85,7
5º	78,5	84,3	78,0	82,8
6º	71,4	77,1	79,6	81,4
7º	80,7	84,2	70,5	86,4
Acumulado	80,0	87,8	82,0	86,2

$\bar{x} : 84,0$

$\{x : 336,00$

$\{x^2 : 28263,30$

TABLA Nº 50 - ENSAYO G-3

Índice de conversión de las diferentes replicas y en distintos periodos del ensayo por los tratamientos

T-1, T-2		Replica				Σx	Σx ²
Periodo	Tratamiento T-1	1	2	3	4		
1º		1,40	1,44	1,40	1,35		
2º		1,35	1,40	1,58	1,36		
3º		1,26	1,37	1,33	1,22		
4º		1,31	1,27	1,36	1,31		
5º		2,02	1,50	1,35	3,70		
6º		1,76	1,61	1,44	1,84		
7º		1,72	1,49	1,41	1,60		
Acumulado		1,54	1,44	1,41	1,76		
Tratamiento T-2		Replica				Σx	Σx ²
Periodo	Tratamiento T-2	1	2	3	4		
1º		1,42	1,24	1,39	1,35		
2º		1,42	1,27	1,40	1,49		
3º		1,38	1,29	1,36	1,36		
4º		1,47	1,29	1,30	1,36		
5º		1,39	1,33	1,44	1,13		
6º		1,30	1,37	1,41	1,74		
7º		1,60	1,40	1,27	1,45		
Acumulado		1,42	1,31	1,36	1,41		

TABLA N^o 51 - ENSAYO G-3

Indice de conversión de las diferentes replicas y en distintos periodos del ensayo por los tratamientos

T-3 , T-4

Periodo	Replica			
	1	2	3	4
1 ^o	1,41	1,29	1,39	1,44
2 ^o	1,36	1,27	1,34	1,39
3 ^o	1,38	1,40	1,36	1,44
4 ^o	1,43	1,33	1,19	1,32
5 ^o	1,49	1,33	1,22	1,31
6 ^o	1,49	1,45	1,55	1,39
7 ^o	1,59	1,41	1,56	1,63
Acumulado	1,45	1,35	1,37	1,41
$\bar{x} : 1,39$ $\{x : 5,58$ $\{x^2 : 7,790$				
Tratamiento T-4				
Periodo	Replica			
	1	2	3	4
1 ^o	1,34	1,43	1,37	1,32
2 ^o	1,28	1,37	1,34	1,33
3 ^o	1,30	1,39	1,36	1,33
4 ^o	1,38	1,45	1,43	1,32
5 ^o	1,35	1,37	1,28	1,34
6 ^o	1,37	1,50	1,57	1,72
7 ^o	1,48	1,57	1,51	1,36
Acumulado	1,35	1,44	1,40	1,37
$\bar{x} : 1,39$ $\{x : 5,56$ $\{x^2 : 7,733$				

TABLA N^o 52 - ENSAYO G-3

Indice de conversión de las diferentes replicas y en
distintos periodos del ensayo por el tratamiento
T-5

Tratamiento T-5 Periodo	Replica			
	1	2	3	4
1 ^o	1,33	1,37	1,50	1,32
2 ^o	1,31	1,33	1,36	1,53
3 ^o	1,41	1,34	1,35	1,39
4 ^o	1,77	1,23	1,32	1,39
5 ^o	1,40	1,45	1,69	1,44
6 ^o	1,58	1,69	1,88	1,51
7 ^o	1,68	1,24	1,52	1,52
Acumulado	1,49	1,37	1,51	1,44

$\bar{X} : 1,45$

$\{x : 5,81$

$\{x^2 : 8,4507$

TABLA Nº 53 - ENSAYO G-3

Peso del huevo de las diferentes replicas y en distintos periodos del ensayo por los tratamientos

T-1, T-2

Periodo	Replica				Σx	Σx ²
	1	2	3	4		
1º	56,6	59,0	54,4	56,2	57,5	13259,2
2º	55,7	58,8	57,5	55,7		
3º	55,0	59,0	56,6	51,2		
4º	50,0	59,0	56,6	-		
5º	63,3	60,0	57,7	55,0		
6º	58,7	61,6	57,7	56,6		
7º	63,3	63,3	60,0	58,0		
Acumulado	57,5	60,1	57,2	55,4		
Tratamiento T-2						
1º	56,2	57,7	56,6	57,7	58,2	13549,7
2º	75,1	60,0	58,8	58,7		
3º	57,5	58,8	56,6	58,8		
4º	57,0	57,0	55,5	57,0		
5º	57,7	57,5	60,0	60,0		
6º	57,7	57,7	58,8	58,0		
7º	62,0	60,0	58,8	61,6		
Acumulado	57,8	58,4	57,8	58,8		

TABLA Nº 54 - ENSAYO G-3

Peso del huevo de las diferentes replicas y en distintos periodos del ensayo por los tratamientos

		T-3, T-4			
Tratamiento T-3		Replica			
Periodo		1	2	3	4
1º		55,0	54,4	57,5	57,0
2º		58,8	57,5	60,0	60,0
3º		57,7	57,5	57,5	58,7
4º		57,1	54,0	56,2	58,3
5º		58,6	57,0	58,0	60,0
6º		61,4	56,6	58,3	60,0
7º		60,0	58,8	65,0	63,3
Acumulado		58,3	56,5	58,9	59,6
Tratamiento T-4					
1º		56,2	57,5	58,0	52,2
2º		56,2	56,6	57,5	55,5
3º		57,3	57,7	58,8	53,7
4º		54,4	55,5	55,7	50,0
5º		55,5	57,5	60,0	50,0
6º		56,6	58,7	58,3	60,0
7º		58,0	61,6	61,4	55,0
Acumulado		56,3	57,8	58,5	53,7

$\bar{X} : 58,3$
 $\{x : 233,3$
 $\{x^2 : 13612,5$

$\bar{X} : 56,5$
 $\{x : 226,3$
 $\{x^2 : 12816,4$

TABLA Nº 55 - ENSAYO G-3

Peso del huevo de las diferentes replicas y en distintos periodos del ensayo por el tratamiento

Tratamiento T-5	T-5				
	Periodo	Replica			
	1	2	3	4	
1º	55,0	55,0	56,2	58,8	
2º	56,6	56,6	58,0	57,7	
3º	57,1	58,0	60,0	58,7	$\bar{X} : 57,3$
4º	55,0	55,5	56,2	57,5	$\{x : 229,4$
5º	58,3	55,7	58,0	57,7	$\{x^2 : 13158,4$
6º	55,0	58,7	58,3	56,6	
7º	58,3	58,7	60,0	60,0	
Acumulado	56,4	56,8	58,1	58,1	

TABLA Nº 56 - ENSAYO G-3

Altura alburmen de las diferentes replicas y en distintos periodos del ensayo por los tratamientos

T-1, T-2 (Unidades Haugh)

Tratamiento T-1	Periodo	Replica				
		1	2	3	4	
T-1	2º	88,5	92,4	84,4	82,3	
	3º	85,3	88,1	83,1	86,1	
	4º	90,4	89,8	85,4	-	$\bar{X} : 86,8$
	5º	92,2	90,6	87,7	87,6	$\sum x : 347,3$
	6º	84,4	88,3	85,1	85,6	$\sum x^2 : 30168,3$
	7º	84,6	87,4	80,7	87,9	
	Acumulado	87,6	89,4	84,4	87,9	
Tratamiento T-2	Periodo	Replica				
		1	2	3	4	
T-2	2º	86,1	93,2	88,5	80,4	
	3º	80,0	87,1	84,1	86,1	
	4º	86,3	92,1	87,8	87,3	$\bar{X} : 86,8$
	5º	85,8	88,2	89,7	88,7	$\sum x : 347,2$
	6º	86,4	83,4	87,2	85,4	$\sum x^2 : 30143,78$
	7º	86,8	88,4	86,4	89,1	
	Acumulado	85,2	88,7	87,2	86,1	

TABLA N° 57 - ENSAYO G-3

Altura alburmen de las diferentes replicas y en distintos periodos del ensayo por los tratamientos T-3, T-4 (Unidades Haugh)

Periodo	Replica			
	1	2	3	4
2Q	85,7	79,8	89,0	82,9
3Q	89,9	88,2	85,2	80,1
4Q	90,1	86,8	88,8	83,4
5Q	89,0	86,5	89,4	84,8
6Q	85,2	85,5	84,4	81,6
7Q	87,6	85,1	87,6	82,3
Acumulado	87,9	85,3	86,4	82,5
$\bar{X} : 85,5$				
$\sum x : 342,1$				
$\sum x^2 : 29273,7$				
Tratamiento T-4				
Periodo	Replica			
	1	2	3	4
2Q	80,3	84,5	89,7	82,0
3Q	80,8	89,4	87,0	77,6
4Q	81,3	83,9	87,5	81,6
5Q	88,5	84,9	87,8	84,8
6Q	81,3	85,6	81,4	84,1
7Q	85,0	82,3	90,6	85,2
Acumulado	82,8	85,1	87,3	82,5
$\bar{X} : 84,4$				
$\sum x : 337,7$				
$\sum x^2 : 28525,4$				

TABLA N° 58 - ENSAYO G-3

Altura alburmen de las diferentes replicas y en
distintos periodos del ensayo por el tratamiento

T-5 (Unidades Haugh)

Tratamiento T-5	Replica			
	1	2	3	4
Periodo				
2º	81,7	89,3	88,4	86,6
3º	85,6	84,9	84,5	87,5
4º	84,3	86,7	90,8	87,4
5º	88,6	85,7	89,2	84,7
6º	85,1	81,9	83,9	83,2
7º	81,8	86,0	87,8	90,3
Acumulado	84,5	85,7	87,4	86,6

$\bar{X} : 86,0$

$\sum x : 344,2$

$\sum x^2 : 29623,0$

TABLA N^o 59 - ENSAYO G-3

Espeor cáscara de las diferentes replicas y en distintos periodos del ensayo por los tratamientos

T-1, T-2 (m.m.)

Tratamiento T-1	Replica			
	1	2	3	4
2q	0,333	0,340	0,323	0,315
3q	0,303	0,347	0,325	0,320
4q	0,290	0,330	0,340	-
5q	0,358	0,356	0,347	0,325
6q	0,357	0,330	0,321	0,315
7q	0,357	0,330	0,321	0,315
Acumulado	0,332	0,338	0,334	0,319
$\bar{X} : 0,330$ $\sum x : 1,323$ $\sum x^2 : 0,437785$				
Tratamiento T-2				
2q	0,336	0,340	0,328	0,335
3q	0,338	0,316	0,325	0,328
4q	0,353	0,330	0,313	0,323
5q	0,337	0,341	0,350	0,327
6q	0,327	0,330	0,355	0,331
7q	0,314	0,313	0,321	0,316
Acumulado	0,334	0,328	0,332	0,326
$\bar{X} : 0,330$ $\sum x : 1,320$ $\sum x^2 : 0,435640$				

TABLA N^o 60 - ENSAYO G-3

Esesor cáscara de las diferentes replicas y en distintos periodos del ensayo por los tratamientos

T-3, T-4 (m.m.)		Replica				Σx	Σx ²
Periodo	T-3	1	2	3	4		
2 ϕ	0,335	0,346	0,340	0,341			
3 ϕ	0,348	0,353	0,325	0,348			
4 ϕ	0,331	0,337	0,337	0,346	\bar{X} : 0,338		
5 ϕ	0,338	0,331	0,333	0,340	Σx : 1,352		
6 ϕ	0,346	0,325	0,348	0,347	Σx^2 : 0,457274		
7 ϕ	0,331	0,335	0,325	0,330			
Acumulado	0,338	0,337	0,334	0,342			
<u>Tratamiento T-4</u>							
2 ϕ	0,338	0,330	0,336	0,315			
3 ϕ	0,351	0,333	0,350	0,310			
4 ϕ	0,345	0,328	0,333	0,307	\bar{X} : 0,329		
5 ϕ	0,348	0,323	0,340	0,333	Σx : 1,319		
6 ϕ	0,352	0,323	0,334	0,316	Σx^2 : 0,435967		
7 ϕ	0,335	0,308	0,332	0,302			
Acumulado	0,344	0,324	0,337	0,313			

TABLA N^o 61 - ENSAYO G-3

Esesor cáscara de las diferentes replicas y en
distintos periodos del ensayo por el tratamiento

T-5 (m.m.)

Tratamiento T-5 Periodo	Replica			
	1	2	3	4
2 ϕ	0,341	0,316	0,361	0,353
3 ϕ	0,343	0,331	0,347	0,341
4 ϕ	0,357	0,318	0,342	0,333
5 ϕ	0,342	0,328	0,348	0,355
6 ϕ	0,336	0,327	0,368	0,340
7 ϕ	0,337	0,325	0,343	0,333
Acumulado	0,342	0,324	0,351	0,342

\bar{x} : 0,340
 $\{x$: 1,360
 $\{x^2$: 0,463274

TABLA N^o 62. - ENSAYO G-3

Color de la yema de las diferentes replicas y en distintos periodos del ensayo por los tratamientos

Tratamiento T-1	Replica				Σx	Σx ²
	1	2	3	4		
2q	10,00	10,00	10,00	10,00		
3q	9,75	9,75	10,25	9,00		
4q	10,50	10,00	10,00	-	Σx : 10,42	
5q	10,33	10,75	11,00	11,00	Σx : 41,68	
6q	12,00	11,00	11,20	12,00	Σx ² : 434,31	
7q	10,25	10,50	10,25	10,25		
Acumulado	10,47	10,33	10,43	10,45		

Tratamiento T-2	1	2	3	4	Σx	Σx ²
2q	12,30	12,00	12,30	12,00		
3q	12,00	12,00	12,00	11,25		
4q	10,75	11,25	10,75	11,25	Σx : 11,60	
5q	11,75	11,50	11,50	11,75	Σx : 46,40	
6q	12,50	11,50	12,20	11,70	Σx ² : 538,28	
7q	11,00	10,75	11,50	11,00		
Acumulado	11,71	11,50	11,70	11,49		

TABLA Nº 63 - ENSAYO G-3

Color de la yema de las diferentes replicas y en distintos periodos del ensayo por los tratamientos T-3, T-4

Periodo	Replica			
	1	2	3	4
2º	12,60	12,30	12,00	13,00
3º	13,00	13,00	12,75	13,25
4º	12,25	11,75	12,00	12,50
5º	11,00	12,75	12,75	12,00
6º	13,00	12,20	12,50	13,00
7º	11,25	11,50	11,50	11,75
Acumulado	12,18	12,25	12,25	12,58
$\bar{X} : 12,31$				
$\sum x : 49,26$				
$\sum x^2 : 606,70$				
Tratamiento T-4				
2º	12,60	13,00	12,30	12,60
3º	13,25	12,75	12,50	12,75
4º	12,50	12,75	12,25	12,25
5º	12,50	12,50	12,75	12,33
6º	12,70	12,00	13,00	12,20
7º	12,75	12,00	12,50	12,25
Acumulado	12,71	12,50	12,55	12,39
$\bar{X} : 12,53$				
$\sum x : 50,15$				
$\sum x^2 : 628,80$				

TABLA N^o 64 - ENSAYO G-3

Color de la yema de las diferentes replicas y en distintos periodos del ensayo por el tratamiento

T-5		T-5			
Tratamiento T-5		Replica			
Periodo		1	2	3	4
2 ^a		11,30	13,00	13,30	13,00
3 ^a		13,25	13,25	12,00	13,25
4 ^a		13,00	12,75	12,50	12,75
5 ^a		13,75	12,75	12,25	12,75
6 ^a		13,20	13,20	13,20	13,00
7 ^a		12,25	12,50	13,00	12,75
Acumulado		12,79	12,90	12,70	12,91

\bar{X} : 12,82
 $\sum x$: 51,30
 $\sum x^2$: 657,90

9.2. ANALISIS ESTADISTICOS

ANÁLISIS ESTADÍSTICOS

Puesto que durante el desarrollo de los ensayos sólo hemos utilizado para el estudio estadístico de los datos obtenidos dos sistemas , el análisis simple jerarquico y el análisis factorial 3 por 2, y como quiera que se han realizado en la totalidad de los ensayos , creemos que basta citar dos ejemplos que incluyan el análisis de estos dos tipos de sistemas.

TABLA Nº 65 - ENSAYO G-3

Análisis estadístico correspondiente al color de la yema del huevo acumulado (98 días de ensayo)

Diseño : Jerarquico Simple

Tratamiento	Réplica				\bar{x}	Σx	Σx^2
	1	2	3	4			
T-1 (0,00)	10,47	10,33	10,43	10,45	10,42	41,68	434,31
T-2 (3,75)	11,71	11,50	11,70	11,49	11,60	46,40	538,28
T-3 (7,50)	12,18	12,25	12,25	12,58	12,31	49,26	606,70
T-4 (10,00)	12,71	12,50	12,55	12,39	12,53	50,15	628,80
T-5 (14,00)	12,79	12,90	12,70	12,91	12,82	51,30	657,90
						238,62	2865,96

Factor de corrección , $C = (\Sigma x)^2 / \text{Nº total de lotes}$

$$C = 238,62^2 / 20 = 2846,97$$

$$\Sigma x^2 = 2865,96$$

$T = \Sigma (\Sigma \text{medias})^2 / \text{Nº de réplicas por tratamiento}$

$$T = 11446,02 / 4 = 2861,50$$

Suma de cuadrados de tratamiento = $T - C = 14,53$

Suma de cuadrados de totales = $\Sigma x^2 - C = 18,99$

TABLA Nº 65 - ENSAYO G-3 (continuación)
ANALISIS DE VARIANZA

Fuentes de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	F
Total	19	18,99		
Tratamientos	4	14,53	3,63	
Error	15	4,46	0,29	12,51

F : (P 0,05) = 3,08

F : (P 0,01) = 4,89

: Diferencia estadísticamente significativa (P 0,01)

Error standard = E.S. = $S_{\bar{x}}$

$S_{\bar{x}} = \frac{\text{C.M. error}}{\text{Nº replicas}} = 0,26$

Comparación múltiple de medias: Test de Newman-Keules

	T-5 12,82	T-4 12,53	T-3 12,31	T-2 11,60	T-1 10,42
T-1 10,42	2,40	2,11	1,89	1,18	-
T-2 11,60	1,22	0,93	0,71	-	
T-3 12,31	0,51	0,22	-		
T-4 12,53	0,29	-			
T-5 12,82	-				

: Tratamientos significativamente diferentes entre sí.

TABLA N^o 65 - ENSAYO G-3 (continuación)

$Q_4 - 1 = 4,37$		$x \quad S_{\bar{x}}$	$= 1,13$
$Q_4 - 2 = 4,08$			$= 1,06$
$Q_4 - 3 = 3,67$			$= 0,95$
$Q_4 - 4 = 3,01$			$= 0,78$

$$S_{\bar{x}} = 0,26$$

Por lo tanto las medias siguientes son superiores a la de los demás tratamientos:

- T-5 > (T-1, T-2)
- T-4 > (T-1)
- T-3 > (T-1)
- T-2 > (T-1)

TABLA Nº 66 - ENSAYO B-2

Análisis estadístico correspondiente al peso vivo de los pollos a los 51 días de edad.
Análisis de varianza de un diseño factorial.

		Nivel de inclusión C.P.F.		
		T-1 (0,00)	T-2 (3,75)	(T-3 (7,50)
Pienso Granulado		1,947	1,979	1,994
		1,891	1,938	1,905
		1,897	1,938	1,745
		1,858	1,938	1,969
	7,593	7,793	7,613	x1 22,999
	1,898	1,948	1,903	\bar{X}_1 1,916
Pienso Harina		1,824	1,790	1,806
		1,781	1,794	1,878
		1,690	1,829	1,903
		1,891	1,882	1,848
	7,186	7,295	7,435	x2 21,916
	1,796	1,823	1,858	\bar{X}_2 1,826
	14,779 j ¹	15,088 j ²	15,048 j ³	44,915
	1,847 \bar{J}_1	1,886 \bar{J}_2	1,881 \bar{J}_3	$\bar{X} \bar{J}$ 1,871

$$\text{Factor de corrección, } C = \frac{(Axj)^2}{24} = 84,056$$

$$T^2 = \frac{1}{8} \quad (Aj..)^2 = 84,063$$

$$P^2 = \frac{1}{12} \quad (x.j.) = 84,105$$

TABLA N^o 66 - ENSAYO B-2 (continuación)

$$\Sigma TP^2 = \frac{1}{4} (\Sigma Ax_j)^2 = 84,119$$

$$\Sigma E^2 = \Sigma (\Sigma Ax_{jk})^2 = 84,194$$

$$\Sigma TP^2 - C = 0,007$$

$$\Sigma E^2 - C = 0,049$$

$$\Sigma TP^2 - \Sigma TP^2 - C = 0,007$$

$$\Sigma E^2 - \Sigma TP^2 = 0,075$$

Fuentes de variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrado medio	F.
Tratamientos	0,007	2	0,0035	-
Piensos	0,049	1	0,0490	11,95
Interacción	0,007	2	0,0035	-
Error	0,075	18	0,0041	-
Total		23		

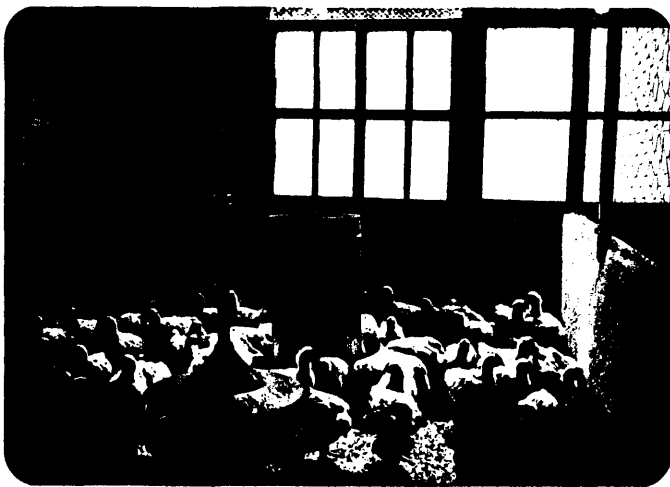
$$F. (18, 1) = 4,41 (P < 0,05)$$

$$8,18 (P < 0,01)$$

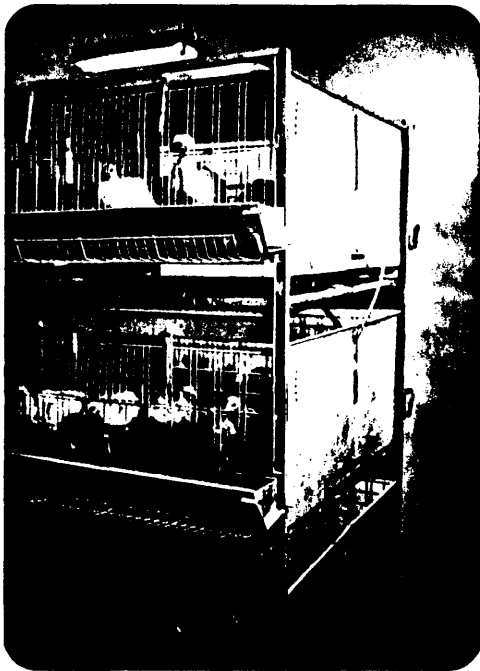
$$F. (18, 2) = 3,55 (P < 0,05)$$

$$6,01 (P < 0,01)$$

$$S_x^2 = 0,022$$



Vista interior y detalle de la Nave Nº 1 de la Estación Experimental Mas Sedó

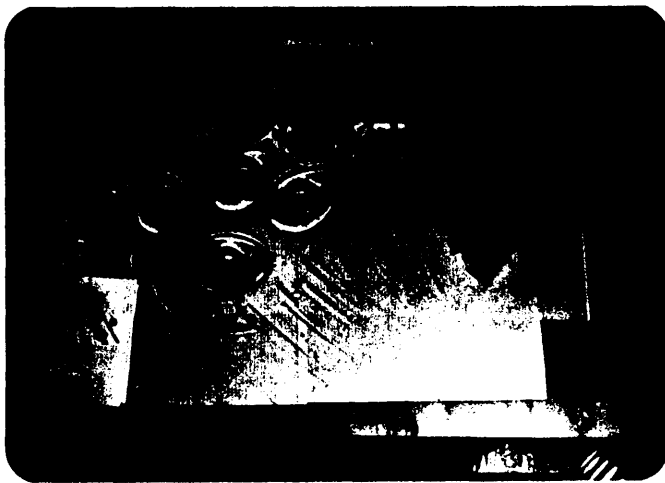


Vista interior y detalle de la Nave Nº 4 de la Estación Experimental Mas Sedó

303²



Vista interior y detalle de la Nave Nº 9 de la Estación Experimental Mas Sedó.



Determinación visual de la pigmentación de la yema del huevo.

10. BIBLIOGRAFIA

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

- ACHWEIGERT, B.S. 1948. The value of various feeds as sources of arginine , histidine, lysine and treonine for poultry. Poultry Sci. 27 : 223
- ALLISON, R.M. and E.W. VARTHE, 1973. Yields of protein extracted from irrigated lucerne . New Zealand J. of Experimental Agric. 1 : 35
- AKESON, W. R. and M.A. STAHPAN, 1964. Pepsin pancreatin digest index of protein quality evaluation. J. Nutr. 83 : 257
- ALIBES, X. , F. MUÑOZ, J. RODRIGUEZ, M.R. MAESTRE, y J.PEREZ. 1979. Una nota sobre el valor alimenticio del ensilado de alfalfa prensado. Dept. de Producción Animal. CRIDA-03-INIA Zaragoza.
- ANDERSON, J.O. 1957. Effect of alfalfa saponin on the performance of chicks and laying hens. Poultry Sci. 36 : 873
- ANUARIO ESTADISTICO DEL MINISTERIO DE AGRICULTURA. 1979.
- ASSOCIATION OF OFFICIAL AGRICULTURAL CHEMISTS, 1965. Official methods of Analysis, 10 th ed. Washington, D.C.
- AGRICULTURAL RESEARCH COUNCIL. 1975. The Nutritional Requirements of Farm Livestock. No 1, Poultry.
- ARCKOLL, D.B. and G.N. FESTENSTEIN, 1971. A preliminary study of the agronomic factors affecting the yield of extractable leaf protein. J. Sci. Food Agric. 22 : 49

- ARCKCOLL, D.B., 1973a . The preservation and storage of leaf protein preparations. J. Sci. Fd. Agric. 24 : 437
- ARCKCOLL, D.B. and M. HOLDEN, 1973b . Changes in chloroplast pigments during the preparation of leaf protein. J. Sci. Fd. Agric. 24 : 1217
- BARBER, R.S., R. BRAUDE and K.G. MITCHELL, 1959. Leaf protein in rations of growing pigs. Proceedings of the Nutrition Society. 18 : iii-iv
- BEAUCHENE, R.E. and H.L. MITCHELL, 1957 Effect of temperature of dehydration of proteins of alfalfa. J. Agr. Food Chem. 5 : 762
- BETTINI, 1970. (citado, M. Piccioni, 1970). Diccionario de Alimentacion Animal. Ed. Acribia, Zaragoza. Pag. 41
- BICKOFF, E.M., A.N. BOOTH, D. de FREMERY, R.H. EDWARDS, B.E. KNUCKLES, R.E. MILLER, R.M. SAUNDERS and G.O. KOHLER, 1975 Proceedings Twelfth Alfalfa Technical Conference. Pag. 110
- BIRK, Y. , A. BONDI, B. GESTETNER and I. ISHAAAYA, 1963. (citado, Liener, 1969). Athermostable hemolytic factor in soybeans. Nature. 197 : 1089
- BLAXTER, K.L., F.W. WAINMAN, P.J.S. DEWEY, J. DAVIDSON, H. DENERY and J.B. GUNN, 1971. (citado, Hauseman, 1975) J. Agric. Sci. Camb. 76 : 307
- BOLTON, J. L. , 1962. (citado, Del Pozo, 1977). Alfalfa, Botany, Cultivation and Utilization. Ed.: Leonard Hill Ltd. Londres. XIV, 474 pag.

- BOITEAU, P. , B. PAGICH and A. RAKATO RATSIMAMANGA, 1964.
(citado, Liener, 1969). "Les triterpenoides en physiologie
vegetala et animale" Ed.: Ganthier-Villars. Centre Natio-
nal de la Reecherche Scientifique. Paris.
- BOOTH, A.N., R.M. SAUNDERS, M.A. CONNOR and G.O. KOHLER; 1972
In vivo and in vitro protein digestibility of alfalfa an
concentrate. Report of the Twenty-firts Alfalfa Improvement
Conference.
- BORCHERS, R., C.W. ACKERSON and R.M. SANDSTEDT, 1947a. Tryp-
sin inhibitor of soybeans. Arch. Biochem. Biophys. 12: 367
- BORCHERS, R., C.W. ACKERSON and L. KIMMETT, 1947b. Trypsin
inhibitor. IV Occurrence in seeds of the Leguminosae and
other seeds. Arch. Blochm. Biophys. 13: 291
- BOYD, C.E. , 1971. Leaf protein from aquatic plants. In :
Leaf Protein ; its agronomy , preparation, quality and use.
IBP Handbook 20, Ed : N.W. Pirie, Pag. 44. Blackwell Scien-
tific , Oxford.
- BRAY, W. 1977. The processing of leaf protein to obtain food-
grade products. Occasional Symposium No 9. British Grassland
Society. Pag. 107
- BUCHANAN, R.A. 1969. In vivo and in vitro methods of measuring
nutritive value of leaf protein preparations. British Jour-
nal of Nutrition. 23 : 533
- BURKART, A. 1943. (citado, Del Pozo, 1977). Las leguminosas
argentinas silvestres y cultivadas. Acme Agency. Buenos Aires.

- BYERS, M. , 1971. The amino acid composition of some leaf protein preparations. In : Leaf Protein : its agronomy, preparation, quality and use. IBP Handbook 20, Ed. N.W. Pirie. Pag. 95. Blacwell Scientific, Oxford.
- CARPENTER, J.J. and K.M. CLEGG, 1965. The metabolizable energy of poultry feedingstuffs in relation to their chemical composition. J. Sci. Food. Agric. 1: 45
- CHAMBERLAIN, N. , T.H. COLLINS, G.A.H. ELTON, D.F. HOLLINGSWORTH, D.B. LISLIE and P.R. PAYNE, 1966. Studies on the composition of food. 2. Comparision of the nutrient content of feed mode conventionally and by the charleywood bread process. Br. J. Nutr. 20 : 747
- CHEEKE, P.R. 1975. Nutritional evaluation of alfalfa protein concentrate with rats, swine and rabbits. Procceding Twelth Technical Alfalfa Conference. Pag 76
- CHEEKE, P.R., 1976. Alfalfa as a protein source for nonruminant animals. Report of the Twenty-Fifth Alfalfa Imprvment Conference. July, Cornell University
- CHEEKE, P.R. , J.H. KINZELL, D. de FREMERY and G.O. KOHLER, 1977. Freeze-dried and commercially prepared alfalfa protein concentrate evaluation with rats and swine. J. Anim. Sci. 44 : 5
- CHEEKE, P.R. 1977. Progress in development of alfalfa as a feedstuff for Non-Ruminants. Feedstuffs, February 28, 1977

- CHESSEMAN, G.C. 1977. The chemical composition of forage juice and its preservation. Occasional Symposium No 9. British Grassland Society. Pag. 39
- CHIBNALL, A.C. and SCHRYVER, 1921. (citado, Galvez, 1978). Investigations on the nitrogenous metabolism of the higher plants. I. The isolation of proteins from leaves. Biochem. J. 15 : 60
- CHIBNALL, A.C. , 1939. (citado, N.W. Pirie, 1978) Protein metabolism in the plant . Yale Univ. Press. New Haven.
- CHIBNALL, A.C. , M.W. REES and J.W.H. LUGG, 1963. The amino acid composition of leaf proteins. J. Sci. Fd. Agric. 14 : 234
- CLARY, P.D. , R. GORDON , D. SINGMAN, S. LEPKOUSKY, 1960. Studies the alfalfa inhibitor. Poultry Sci. 39 : 399
- CLIFFORD, A.J., W.C. WEIR, J.A. VASCONCELLOS, L.P. FORMAN and D. LUMIJARVI, 1975. A nutritional evaluation of leaf protein concentrates. American Society of Agricultural Engineers Papers. No 75 : 1059
- COLE, H.H., C.F. HUEFMAN, M. KLEIBER, T.M. OLSON and A.F. SHALK, 1945. A review of boat in ruminats. J. Animal Sci. 4 : 183
- CONNELL, J. and R.S. HAUSEMAN, 1977. The utilization by ruminants of the pressed green crops from fractionation machinery. Occasional Symposium No 9. British Grassland Society. Pag. 57

- COULSON, C.B., 1958. Saponins. I. Triterpenoid saponins from lucerne and other species. J. Sci. Fd. Agric. 9 : 281
- COWLIAHAV, S.J. , D.E. EYLES, W.F. RAYMOND and J.M.A. TILLEY, 1956. (citado, Morris, 1977) Nutritive value of leaf protein concentrate. I . Effect of addition of cholesterol and amino-acids. J. Sci. Fd. Agric. 7 : 768
- DAVYS, M.N.G. and N.W. PIRIE, 1965. (citado, N.W. Pirie, 1975) A belt press for separating juices from fibrous pulps. Journal of Agricultural Engineering Research. 10 : 142
- Del POZO, M. 1977. La alfalfa su cultivo y aprovechamiento. Ed. : Mundo Prensa. Madrid. 379 pag.
- DEMARLY, Y. 1967. La mejora genetica de la alfalfa. Primeras jornadas Nacionales de la Alfalfa. Zaragoza.
- DESHMUKH, M.G., S.B. GORE, A.M. MUNIKAR and R.N. JOSHI, 1974. The yields of leaf protein from varius short-duration crops. J. Sci. Fd. Agric. 25 : 717
- DEV, D.V., U.R. BATRA and R.N. JOSHI, 1974. The yields of extracted leaf protein from lucerne (Medicago Sativa, L.) J. Sci. Fd. Agric. 25 : 725
- DILLY, J.D. , O. MATHAN , 1978. Extraction of protein lucerne. Industries Alimentaires et Agricoles. Abstracts, 3954, 1979.
- DJERASSI, C., D.B. THOMAS, A.L. LIVINGSTON and C,R. THOMPSON. 1957. (citado, Liener, 1969). Terpenoids XXXI. The structure and stereochemistry of medicagenic acid. J. Am. Chem. Soc. 73 : 5592

- DROZDZ, B. 1962. (citado, Liener, 1969). Zmiany Aktywahosci hemilitycznej w oksesie rocznej wegetacji wielosita blekit nego polemoin coeruleum l. Dissertations Pharm, 14 : 519
- DORAISWAMY, T.R., N. SINGH and V.A. DANIEL, 1969. Effects of supplementing rat diets with lysine or leaf protein on the growth of children in India. British Journal of Nutrition, 23 : 737
- DUCKWORTH, J. and A.A. WOODHAM. 1961. Leaf protein concentrate. I. Effect of source of raw material and method of drying on protein value for chicks and rats. J. Sci. Fd. Agric. 12 : 5
- EDWARDS, R.H. , D. FREMERY and G.O. KOHLER, 1978. Use of recycled dilute alfalfa solubles to lucerne the yielded of leaf protein concentrate from alfalfa. J. Agric. Fd. Chem. Vol. 26, No. 3
- EGGUM, B.O., 1969. (citado , Heath, 1977) . In new approaches to breeding for improved protein , Pag. 125. International Atomic Energy Agency, Viena.
- FAO. 1965. Protein requirements, Nutr. Mtg. Rep. Ser. No. 37 Food and Agricultural Organization , Roma.
- FAO. 1970. Amino acid content of foods and biological, Data on proteins . Ed : Italia Roma.
- FAO. 1973. Energy and Protein Requirements. Nutr. Mtg. Rep. Ser. No. 52
- FARRELL, D.J. 1978. Rapid determination of metabolizable energy of foods using cockerels. Br. Poultry Sci. 19 : 303

- FERRER, M.I. , S.E. SILVA , B.R. BARRIGA., 1977. Producción de proteínas de las hojas de *Chenopodium Albium*. Dep. de Macromoléculas. Inst. Ciencias Químicas. Univ. Católica Chile.
- GALOPINI, C. , R. FIOENTINI, P. PACHETTI, 1978. Leaf protein for animal feeding . Italian Research and Realization. III Congreso Mundial de Alimentación Animal. Tomo VII. Madrid.
- GASTINEAU, C. 1975. The French Work. Proceedings Twelfth Technical Conference, 123-126 : Agricultural Research Service, USDA.
- GREENGALGH, J.F.D., G.W. REID, 1974. Mechanical Processing of wet roughage. Proc. Nut. Soc. 34 : 74
- GEORGE, A.J. 1965. (citado , Liener, 1969). Legal status and toxicity of saponins. Food Cosmet. Toxicol. 3 : 85
- GERLOFF, E.D. , I.H. LIMA and M.A. STAHRMAN, 1965. Amino-acid composition of leaf protein concentrates. J. Agric. Fd. Chem. 13 : 139
- GESTETNER, B. , Y. BIRK and A. BONDI, 1966a (citado, Liener, 1969). Soya bean saponins. VI. Composition of carbohydrate and aglycone moieties of soya bean saponine extract and of its fractions. Phyto. Chemistry. 5 : 779
- GESTETNER, B., Y. BIRK, A. BONDI and Y. TENCER, 1966b (citado, Liener, 1969). Soya bean saponins VII. A method for the determination of saponin and saponin contents in soya beans. Phytochemistry 5 : 1031.

- GONZALEZ , G. , 1979. Capacidad energética de la Agricultura. Sesión científica de la Real Academia de Medicina, Marzo 1979. Barcelona.
- GONZALEZ, G. 1977. Tesis. Contribución al estudio de las leguminosas españolas : la harina de habas tipo major en las raciones para especies monogástricas.
- GUHA, B.C. 1960. (citado, Pirie, 1978) Leaf protein as a human food. Lancet. I. 705
- HANSON, C.H., G.O. KOHLER, J. W. DUDLEY, E.L. SORENSEN, G.R. VAN ATTA, K.W. TAYLOR, M.W. PEDERSEN, H.L. CAENAHAM, C.P. WILSIE, W.R. KERR, C.C. LOWE, E.H. STANFORD and J. A. YUNSEN. 1963. (citado, Liener, 1969). Saponin content of alfalfa as related to localation cutting, varity and other variables. Agr. Res. Ser. U.S. Dept. Agr. Bull. 34
- HANSON, C.H. and G.O. KOHLER, 1961. (citado, Liener, 1969) Progress report on study of cultural factors related to strogen and saponin content of alfalfa. Proc. 7 th. Tech. Alfalfa conf. , Albany California , Pag. 46. USDA
- HANSON, C.H. , M.W. PEDERSEN, B. BERRANG, M.E. WALL and K.H. DAVIS, 1973. (citado, Cheeke, 1977b). The saponins in alfalfa cultivars. Anti-cuality components of forrages. Crop Science Society of America. Madison , Wis. Pag. 33
- HARBONE, J.B., D. BOULTER and B. TURNER. 1971. Chemotaxonomy of the leguminosae . Acad. Press Inc. Publi. New York
- HAUSEMAN, R.A. , A.S. JONES, G.M. INNESS and A. COLLIER. 1975. Proc. Br. Soc. Anim. Prod. 4 : 107 . Forage crop fractionation.

- HASHIZUME, A. and Y. SAKATO, 1966. (citado, Liener, 1969)
Saponin from the leaf of thea sinensis. I. Isolation of the
saponin the leaf of the sienensis and its propieties. Chem.
Abtr, 64 : 13019
- HEATH, S.B. , 1977. The production of leaf protein concentrate
from forage crops . Recent Advances in Animal Nutrition 1977.
Ed : W. Haresign y D. Lewis. Butterworths. Londres.
- HEIN, S. 1959. (citado, Liener, 1969). Untersuchugen uber
die Flavonoide und Saponine in Verbascum-Artem insbesinsedere
in Blüten von Verbacum Phlomoides. Planta Med. 7 : 185
- HEYWANG, B.W. 1950. High levels of alfalfa meal in diets for
chickens. Poultry Sci. 29 : 804
- HEYWANG, B.W. and H.R. BIRD. 1954. The effect of alfalfa saponin
on the growth, diet composition , and effiency of diet uti-
litzation of chicks. Poultry Sci. 33 : 239
- HEYWANG, B.W. , C.R. THOMPSON and A.R. KEMMERER, 1959. Effect
of alfalfa saponin on laying hens. Poultry Sci. 38 : 268
- HIDALGO, F. 1965. Las alfalfas españolas. Hojas divulgadoras ,
Ministerio de Agricultura. No. 7 : 65, Madrid.
- HOVE, E.L., E. LOHREY, M.K. URS and R.M. ALLISON, 1974.
The effect of lucerne-protein concentrate in the diet on
growth , reproduction and body composition of rats. British
Journal of Nutrition. 31 : 147
- HUDSON, B.J.E. and I.G. KARIS, 1973. Aspects of vegetable struc-
tural lipids. I. The lipids of leaf protein concentrate.
J. Sci. Fd. Agric. 24 : 1531

- HUDSON, B.J.F. and I.G. KARIS. 1976. Stability of lipids and proteins in leaf protein concentrate. J. Sci. Fd. Agric. 27 : 443
- INERETEI, M.S. 1976. The effect of solvents on the properties of leaf protein concentrate. M.Sc. Thesis. University of Reading. (citado, Bray, 1977). Occasional Symposium Nº 9 British Grassland Society.
- ISHAAYA, I. and Y. BIRK, 1965. (citado, Liener, 1969). Soybeans Saponins IV. The effects of proteins on the inhibitory activity of soybean saponins on certain enzymes. J. Food. Sci. 30 : 118
- JACKSON, H.D. and R.A. SAHW. 1959. (citado , Liener, 1969). Chemical and biological properties of respiratory inhibitor from alfalfa saponins. Arch. Biochem. Biophys. 84 : 411
- JAMES, C.S., C.T. THOMAS, and N. KUNSIKUTTY. 1977. A note on the chemical composition and tonic acid content of the locality available tree leaves. Abstracts. Vol 49, No 7, 2668
- JONES, A.S. , N.A. McLEOD, A. MacDEARMED and R.A. HAUSEMAN. 1974 Proc. Br. Soc. Anim. Prod. 3 : 113. Forage crop fractionation
- JONES , A.S. and R.A. HAUSEMAN, 1975. Forage crop fractionation. Rep. Rawett Inst. 1975. No. 31, Aberdeen.
- JONES, A.S. , 1977. The principles of green crop fractionation. Occasional Symposium. Nº 9, British Grassland Society. Pag. 12

- KAWASAKI, T. and T. YAMAUCHI, 1962. (citado , Liener, 1969)
Structures od dioscin, gracillin and kikuba-saponin. (sa-
ponins of Japanase Diocoreaceae). XI. Chem. Pharm. Bull.
10 : 703
- KELLEY, E.G. 1953. Protein amino acids contents of vegetable
leaf proteins. J. Agric. Chem. 1 : 680
- KENDALL, K.A. , 1951. (citado, Liener, 1969). Inhibition of the
the proteolytic activity of trypsin by green plant extracts.
J. Dairy Sci. 34 : 499
- KOCHETOV, N.K. , A.J. KHORLIN and J.S. OVODOV. 1963. (citado,
Liener, 1969) The estructure of gypsoside -triterpenic saponin
from *Gypsophila pacifica*. kom . Tetrahedrom Letters 8 : 477
- KOCHHETOV , N.K. and KOHRLIN , 1966. (citado , Liener, 1969)
Oligoside , ein nuer typ von Pflanzenglykoiden. Arzneimittel.
Forsch. 16 : 101
- KOHLER, G.O. and E. N. BICKOFF, 1971. Comercial production from
alfalfa in U.S.A.. In : Leaf protein: its agronomy, prepa-
ration, quality and use. IBP Handbook 20, Ed. N.W. Pirie,
Blacweell Scientific, Oxford.
- KOHLER, G.O. , 1972. Review of leaf protein concentrate produc-
tion and projected uses. Report of Twenty Firths Alfalfa
Improvement Conference.
- KOHLER, G.O. and E.M. BICKOEF , 1975. Industrial production of
leaf protein concentrate in the USA. En : Food Protein Sources
IBP . Ed : N.W. Pirie. 1975.

- KRIDER, G.O., J.R. BRANAMAN and M.E. WALL, 1955. (citado, Liener, 1969). Steroidal Sapogenins. XVIII. Partial hydrolysis of steroidal saponins of *Yucca schidigera*. J. Am. Chem. Soc. 77 : 1238
- KUZMICKY, D.D., G.O. KOHLER and E.M. BICKOFF, 1972. Utilization of Pro-Xan as a protein source for broilers. Report of the twenty-Fifth Alfalfa Conference.
- KUZMICKY, D.D. and G.O. KOHLER, 1977a. Nutritional value of alfalfa leaf protein concentrate (Pro-Xan) for broilers. Poultry Sci. 56 : 1510
- KUZMICKY, D.D., A.L. LIVINGSTON, R.E. KNOWLES and G.O. KOHLER, 1977. Xantophyll availability of alfalfa leaf protein concentrate (Pro-Xan). Poultry Sci. 56 : 1504
- LAWES, J.B. 1885. (citado, Liener, 1978) Sugar as a food for stock. J. R. Agric. Soc. 21 : 81
- LEPKOUSKY, S. , W. SHAELEFF, D. PETERSON and R. PERRY. 1950. Alfalfa inhibitor in chick rations. Poultry Sci. 29 : 208
- LIENER, I.E., 1969. Toxic constituents of plants foodstuffs. Ed : Academic Press, New York.
- LIMA, I.H., T. RICHARDSON and M.A. STAHEMN. 1965. Fatty acids in some leaf protein concentrates. J. Agric. Fd. Chem. 13 : 143
- LINDGREN, E. 1975. The nutritive value of peas and field beans for hens. Swedish. J. Agric. Research. 5 : 159

LINDHAL; I.L., W.T. SHALKOP, R.W. DOUGHERTY, C.R. THOMPSON,
G.R. VAN ATTA, E.M. BICKOFF, E.D. WALTER, A.G. LIVINGSTON
J. GUGGOLZ, R.H. WILSON, M.B. BIDEAN and F. De EDS, 1957.
(citado, Liener, 1969). Alfalfa saponins. Studies on their
chemical. Pharmacological and Physiological proprieties in
ralation to ruminant bloat. U.S. Dept. Agr. Tech. Bull. 1161

LIVINGSTON, A.L. 1959. Lucernic acid, a new triterpene from
alfalfa. J.Org. Chem. 24 : 1567

LOHREY, E. , B. TAPPER and E.L. HOVE, 1974. Photosensitization
of albino rats fed on lucerne protein concentrates. Bri.
J. Nut. 31 : 159

MALINOW, M.R. , P. McLAUGHLIN, L. PAPWORTH, C. STARFORD, G.O.
KOHLEER, A.L. LIVINGSTON, P.R. CHEKKE, 1977. Effect of al-
falfa saponins on intestinal cholesterol basorption in
rats. The American Journal of Clinical Nutrition. 30 : 2061

MARQUARDT, R.R. , L.D. CAMPBELL and T. WARD, 1976. Studies
with chicks on the growth depressing factors in faba beans
(Vicia Faba L. Var. minor). J. Nut. 106 : 275

MASLINKOW, M. , P. BOYADZHIEV, N. DONEV, V. TANEV, N. MASHEV,
1978. More complete utilization of nutrients in lucerne
and the incresed productivity of heat driers. Abstracts.
3955. Octubre. 1979

MYER, R.O., P.R. CHEEKE and W.H. KENNICK, 1975. Utilization of
alfalfa protein concentrate by swine. J. Animal Sci. 40 : 5

NEWMAN, H.A.I., F. A. KUMEROW and H.A. SCOTT, 1958. Dietary
saponin a factor wich may reduce liver and serum cholesterol
level. Poultry Sci. 37 : 42

- NORD, E.C. and G.R. VAN ATTA, 1960. (citado, Liener, 1969)
Saponin a seed germination inhibitor. Forest. Sci. 6 : 350
- N.R.C. 1977. Nutrient Requeriments of Poultry. National
Academy of Sciences , Washington , D.C.
- OLSON, T.M. 1944. (citado, Liener, 1969). Bloat in dairy
cattle. S. Dakota Agr. Expt. Sta. cir. 52 :11
- OSBORNE, T.B. and A.J. WAKEMAN , 1920. (citado, Pirie, 1978)
The proteins of green leaves. I. Spinach leaves. J. Biol.
Chem. 42 : 1
- OSBORNE, T.B., A.J. WAKEMAN and C.S. LEAVENWORTH. 1921. The
proteins of alfalfa plant. J. Biol. Chem. 49 : 63.
- PEDERSEN, M.W. and G.A. TAYLOR. 1962. (citado, Liener, 1969).
Varietal differences in the saponin content of alfalfa.
Proc. 7th Conf. Rumen Function.
- PEDERSEN, M.W. 1965. (citado, Liener, 1969). Effect of alfalfa
saponin on cottonseed germination. Agronomic Journal. 57 :
516.
- PEDERSEN, M.W., D.E. ZIMMER, J.O. ANDERSON and C.F. McGUIRE.
1966 (citado, Liener, 1966). A comparison of saponins from
Du Puits, Lahontan, Ranger and Vinte alfalfas. Proc. 10th
International Grassland Congress. Helsinki. p. 266.
- PEDERSEN, M.W., J.O. ANDERSON, J.C. STREET, L.C. WANG and R.
BAKER. 1972. Growth response of chicks and rats fed alfalfa
with content modified by selection. Poultry Sci. 51 : 458.

- PION, R. and G. FAUCOMEAU. 1966. Les acides aminés des protéines alimentaires. Methodes de dosage et resultat obtenus. Amini. Acides, Peptides, Proteines, AEC 6 : 158.
- PIRIE, N.W. 1971. Leaf Protein: its agronomy, preparation, quality and use. Ed. N.W. Pirie. IBP Handbook nº 20.
- PIRIE, N.W. 1973. Plants as sources of unconventional protein foods. Symposium on the Biological Efficiency of Protein Production, p. 101. Cambridge University Press.
- PIRIE, N.W. 1975. Leaf Protein. Food protein sources. IBP 4 : 133.
- PIRIE, N.W. 1978. Leaf protein and other aspects of fodder fractionation. Cambridge University Press.
- POTTER, G.C. and F.A. KUMMEROW. 1954. (citado Liener, 1969). Chemical similarity and biological activity of the saponins isolated from alfalfa and soybean. Science 120 : 224.
- PRESTON, W.H., Jr., J.R. HAUN, J.W. GARVIN and R.J. DAUM. 1964. (citado Liener, 1969). Several aspects of growth, development, and sapogenin yield of tubers of *Dioscorea spiculiflora*. Econ. Botany 18 : 223.
- PULLAR, J. 1958 (citado Jones, 1975). Publi. Eur. Ass. Anim. Prod. Nº 8 : 95. Forage crop fractionation.

- QUIM, J.L. 1943. (citado, Liener, 1969). Studies on the alimentary tract of merino sheep in South Africa. VIII. The pathogenesis of acute tympanites (bloat). Ondesterpoort J. Vet. Sci. Animal Ind. 18 : 113
- RAMIREZ , J.S. and H.L. MITCHELL. 1960. The trypsin inhibitor of alfalfa. J. Agric. Food Chem. 8 : 393
- RAYMOND, W.F. and C.E. HARRIS. 1957. (citado, Jones, 1975). J. Bri. Grass. Soc. 12 : 166 . Forage crop fractionation.
- REVUELTA, G.L. 1963. Bromatología Zootecnica y Alimentación Animal. Ed : Labor S.A. Barcelona
- RICHOU, R., P. LA LLAVETTE and H. RICHOU. 1965. (citado, Liener, 1969). Immunologie-influence du chauffage sur diverses propriétés de la saponine et en particulier, sur son pouvoir adjuvant et stimulant de l'immunité. Comp. Rend. Acad. Sci. 260 : 5963
- RIVADULLA, J.P. 1978. Aplicaciones tecnológicas del fraccionamiento de la alfalfa y plantas jóvenes . III Congreso Mundial de Alimentación Animal. Vol. VII . Madrid.
- ROCHER, Y. 1965. (citado, Liener, 1969). Isolation of saponins from ficaria ramunculoides . Chem. Abstr. 64 : 6418
- ROUELLE, H.M. 1973. (citado, Pirie, 1978). Observations sur les feules ou parties vertes des plantes , et sur la matière glutineuse on vegeto-animale. J. Med. Chir. Pharm. 40 : 59

SCOTT, M.L., M.C. NEISHEIM and R.J. YOUNG. 1969. Nutrition of the chicken. Ed : M. L. Scott & Associates. Ithaca.

SHAH, F.H. 1971. The effects of solvents on the extractibility of lipids from leaf proteins. Pakistan J. Sci. and Industrial Research. 14 : 207

SHERPPERSON, G., J. CONNELL, R.A. HAUSEMAN and S.B. HEATH. 1977. The performance of the machinery at present available for the expression of juice from forage crops. Symposium No 9. Br. Grassland Soc. p. 29

SHOPPEE, C.W. 1964. (citado, Liener, 1969) Chemistry of the steroids. Toxic constituents of plants foodstuffs.

SHURPALEKAR, L.K., N. SINGH and O.E. SUNDARAVALLI. 1969. Nutritive value of leaf protein from lucerne (Medicago Sativa) : Growth responses in rats at different protein levels and to supplementation with lysine and methionine. Indian J. Exp. Biol. 7 : 279

SHIRES, A. A.R. ROBBLEE, R.T. HARDIN and D.R. CLANDININ. 1979. Effect of the previous diet, body weight, and duration of starvation of the assay bird on the true metabolizable energy value of corn. Poultry Sci. 58 : 602

SIBBALD, I.R. , 1975. The effect of level of feed intake on metabolizable energy values measured with adult roosters. Poultry Sci. 54 : 1990

SIBBALD, I.R. , 1976a. A bioassay for true metabolizable energy in feedingstuffs. Poultry Sci. 55 : 303

SIBBALD, I.R., 1976b. The effect of cold pelleting on the true metabolizable energy values of cereal grains fed to adult roosters and a comparison of observed with predicted metabolizable energy values. Poultry Sci. 55 : 970

SIBBALD, I.R., 1976c. The true metabolizable energy value of several feedingstuffs measured with roosters, laying hens, turkeys and broilers hens. Poultry Sci. 55 : 1459

SIBBALD, I.R. 1976d. The effect of duration of starvation of the assay bird on true metabolizable energy values. Poultry Sci. 55 : 1578

SIBBALD, I.R. 1977a . The " True Metabolizable Energy " system. Feedstuffs, October : 11/77 and 17/77

SIBBALD, I.R. 1977b. The true metabolizable energy values of some feedingstuffs. Poultry Sci. 56 : 380

SIBBALD, I.R. 1977c . A test of the additivity of true metabolizable energy values of feedingstuffs. Poultry Sci. 56 : 363

SIBBALD, I.R. 1977d . The effect of level of feed input on true metabolizable energy values. Poultry Sci. 56 : 1662

SIBBALD, I.R. 1978. The effect of the duration of the excreta collection period on the true metabolizable values of feedingstuffs with slow rates of passage. Poultry Sci. 58 : 896

SIBBALD, I.R. 1979a . Passage of feed through the adult rooster . Poultry Sci. 58 : 446

- SIBBALD, I.R. 1979b . Metabolizable energy evaluation of poultry diets. Recent Advances in Animal Nutrition-1979. Ed. : W. Haresign & D. Lewis. Butterworths. 1980
- SIMPSON, J.C.E. and W.A. JACOBS. 1935. (citado, Liener, 1969). Sarsapogenin ii. Journal of Biology and Chemistry. 109 : 573
- SNEDECOR, W. G. and W.G. COCHAN. 1957. Statistical methods, Iowa State , College Press, Ames , Iowa.
- SRI AVINAS HILINGAM HOME SCIENCE COLLEGE. 1976. (citado, Bray, 1977). Annual Report on Leaf Protein Feeding Project. Occasional Symposium No 9 : British Grassland Society. p. 107
- STEIRNER, M. and H. HOLZTEM. 1955. (citado, Liener, 1969) In " Moderne Methoden der Pflanzenanalyse " (Ed : K. Paech and M.V. Tracey). Vol III. p. 58 Springer Verlag. Berlin.
- STONE, S.L., R.J. EARLY and J.A. FROSETH. 1976. Low saponin alfalfa in swine rations. Proc. 1976. Washington State University Swine Day, Report nº 9.
- SUBBA RAU, M.S. , N. SINGH and G. PRAANAPPA. 1967. Preservation of wet leaf protein concentrate. J. Sci. Food. Agric. 18 : 295
- SUBBA RAU, M.S., K.V.R. RAMANA and N. SINGH. 1972. Studies on nutritive value of leaf protein and some factors affecting their quality. J. Sci. Food. Agric. 23 : 233

- TAKAHASHI, T., M. MIYAZAKI, M. YASUE, H. IMAMURA and O. HONDA. 1963. (citado, Liener, 1969). The chemistry of wood extractives . IV. A saponin from wood of shina linkinensis nakai. Journal of Japan Wood Res. Soc. 9 : 59
- TEKALE, N.S. and R.N. JOSHI . 1976. Extractable protein from by-product vegetation of some cole and root. Ann. Appl. Biol. 82 : 155
- THOMPSON, C.R. , G.R. VAN ATTA, E.M. BICKOFF, E.D. WALTER, A.L. LIVINGSTON and J. GUGGOLZ. 1957. (citado, Liener, 1969). Preparation and chemistry of legume saponins. U.S. Dept. Agr. Tech. Bull. 1161 : 63
- THORBECK, G. 1975. (citado , Jones, 1975) . Beretrn. St. Husdur. brukaforrag, Nr. 424 : 93
- VAN ATTA, G.R. and J. GUSSOLZ. 1958. (citado , Liener, 1969). Forage constituents ; detection of saponins and sapogenins on paper chromatograms by liebarman-Burchard reagent. J. Agric. Food Chem. 6 : 849
- VALLI DEVI, A., N.A. RAO and P.K. VIJAYARAGHAVAN. 1965. Isolation and composition of leaf protein from certain species of indian flora. J. Sci. Food Agric. 16 : 116
- VILLAX, E. J. 1963. La culture des olantes fourrageres dans la region mediterraneene occidentale. Les Cahiers de la Recherche Agronomique. No. 17. I.N.R.A.
- WALTER, E.D., G.R. VAN ATTA, C.R. THOMPSON and W.D. MACLAY 1954. (citado, Liener, 1969). Alfalfa saponin. J. Am. Chem. Soc. 76 : 2271

WALTER, V.M., A.E. PURCELL and G.K. McCOLLUM. 1978. Laboratory preparation of a protein-xanthophyll concentrate from sweet potato leaves. Abstracts 2063, Vol 49, June 1979.

WARTMAN, S. 1978. Alimentación y Agricultura : revisión del problema de la alimentación , la solución estriba en la agricultura. Ed. Editorial Labor. S.A., Colección : Investigación y Ciencia.

WATERLOW, J.C. 1962. The absorption and retention of nitrogen from leaf protein by infants recovering from malnutrition. British Journal of Nutrition . 5 : 531

WATSON , S.J. 1960. Conservation of grass and forage crops. Oliver and Boyd. Ed. Edinburgh & London

WILSON, B.J. , J.M. Mc. NAB and BENTLEY 1972. The effect on chick growth of a trypsin inhibitor isolate from the field bean (*Vicia Faba*, L.) Br. Poultry Sci. 13 : 521

WINTERSTAIN, E. 1901. (citado, Pirie, 1978). Ueber die stickstoffhaltigen Bestandtheile grüner Blätter. Ber. Dt. Bot. Ges. 19 : 326

WITT, S.C. , R.A. SPENCER, E.M. BICKOFF and G.O. KOHLER. 1971. Carotenoid storage stability in drum dried Pro-Xan. J. Agric. Food Chem. 19 : 162

WOODHAM, A.A. 1965. The nutritive value of leaf protein concentrates. Proc. Nutr. Soc. 24 , XXIV

WOODHAM, A.A. 1971. The use of animal tests for the evaluation of leaf protein concentrates. in : Leaf Protein : its agronomy, preparation , quality and use. Ed. N.W. Pirie, IBP Handbook No 20.

WELLS, R.G. 1968. The measurements of certain egg quality characteristics: a review In: Egg quality A study of hen's egg. Ed. Carter, I.C., Oliver and Boyd, Edinburg. p. 207.

