

DETERMINACIÓN DE LA FIBRA SOLUBLE EN DETERGENTE NEUTRO: MODIFICACIONES DEL MÉTODO ORIGINAL

Martínez-Vallespín, B., Navarrete, C., Martínez-Paredes, E., Ródenas, L., Cervera, C. y Blas, E.

Instituto de Ciencia y Tecnología Animal. Universidad Politécnica de Valencia.
46071 Valencia. Spain. beamarva@upvnet.upv.es

INTRODUCCIÓN

Dentro de la valoración de los alimentos siempre ha existido una problemática a la hora de definir y determinar la fracción fibrosa. Desde la determinación de la fibra bruta (FB) incluida en el análisis inmediato se han ido sucediendo diversos métodos para intentar evaluar de una manera más precisa dicha fracción, como el método Van Soest que identifica las fracciones fibra neutro detergente, fibra ácido detergente y lignina ácido detergente (FND, FAD y LAD, respectivamente), los métodos enzimático-gravimétricos y enzimático-cromatográficos para valorar la fibra dietaria total, insoluble y soluble (FDT, FDI y FDS, respectivamente) o el análisis de fibra soluble en detergente neutro (FSDN) desarrollado por Hall *et al.* (1997).

Este último se basa en cambios de masa entre residuos extraídos. Los carbohidratos contenidos en la materia orgánica (MO) del residuo insoluble en solución acuosa de etanol (RIE) son almidón, fibra “soluble” y fibra “insoluble”. Una solución neutro detergente (que incluye amilasa termoestable) extrae los carbohidratos de bajo peso molecular así como el almidón y la FSDN dejando un residuo cuya MO constituye la FND. La diferencia entre la MO del RIE y la FND, corregida por almidón y proteína bruta (PB), es una buena estimación de la FSDN, que esencialmente incluye pectinas (solubles e insolubles), hemicelulosas solubles (arabinoxilanos y β -glucanos), fructanos y oligosacáridos.

El objetivo de este estudio es implementar el análisis de la FSDN en el Laboratorio del Instituto de Ciencia y Tecnología Animal de la UPV incorporando distintas modificaciones del método original.

MATERIAL Y MÉTODOS

La primera modificación sobre el método original consistió en la adaptación del análisis para la utilización del aparato de extracción ANKOM 200/220; para ello se emplearon bolsas de nylon con una porosidad de 25 μ m (ANKOM F57). Por otro lado, para simplificar el procedimiento original y reducir los errores, todas las pesadas se realizaron en materia seca (MS), es decir, después de mantener la muestra o sus residuos en estufa a 103 °C durante 24 horas y enfriar en desecador.

El siguiente paso fue comprobar si la extracción con detergente neutro se debía hacer sobre muestra íntegra (método original) o, de forma secuencial, sobre muestra ya extraída con etanol. Para ello se utilizó heno de alfalfa y se analizaron, en dos periodos distintos, un total de 7 bolsas para determinar la FND de la muestra íntegra (y otras tantas para la PB asociada) y 6 para determinar la FND del RIE (y otras tantas para la PB asociada).

Se planteó además si era necesario realizar una extracción previa con éter, ya que, como se apunta en el método original, la extracción con etanol podía no ser suficiente en materias primas o piensos con un alto contenido en grasa. Para ello se emplearon dos piensos formulados para conejos, con 3% ó 6% de grasa añadida, y se determinó el extracto etéreo (EE) del RIE (2 bolsas/pienso).

Por último, y una vez establecido el protocolo a seguir, se planteó una prueba para validarlo, en la que se utilizaron 4 piensos (P1, P2, P3 y P4), todos ellos analizados por dos analistas, cada uno de los cuales realizó dos series de análisis (en dos periodos distintos).

Los análisis de MO, PB y EE se realizaron de acuerdo a los métodos de la AOAC (2000): 942.05, 976.06 y 920.39 respectivamente, con hidrólisis ácida previa a la extracción con éter. El contenido en almidón se determinó de acuerdo a Batey (1982), con un

procedimiento enzimático en dos fases (solubilización e hidrólisis parcial con una α -amilasa termoestable seguida de una hidrólisis completa con amiloglucosidasa), midiendo la glucosa resultante con el sistema hexokinasa/glucosa-6-fosfato deshidrogenasa/NADP (R-Biopharm, Darmstadt, Alemania).

Los resultados obtenidos se analizaron mediante el procedimiento GLM del paquete estadístico SAS (Statistical Analysis Systems Institute, 2002).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la Tabla 1 se observa que la fracción FND es mayor cuando se determina sobre la muestra íntegra que cuando se determina sobre el RIE (+1,28±0,43%; $P=0,016$), ocurriendo lo mismo en el caso de la PB ligada a la FND (+0,39±0,12%; $P=0,012$). Esto indica que habría una cierta fracción de la muestra que es soluble en etanol pero insoluble en detergente neutro y que en el método original se descuenta dos veces: al extraer con etanol esa fracción ya no aparece en la MO_{RIE} pero como forma parte de la FND se vuelve a descontar al realizar la diferencia $MO_{RIE}-FND$. Por ello, en el protocolo modificado la FND se determina sobre el RIE (FND_{RIE}). En consecuencia, la PB de la FND se determinará también sobre el RIE (PB_{FNDRIE}).

Por otro lado, el EE del RIE fue mayor en el pienso con 6% de grasa añadida que en el pienso con 3% de grasa añadida (1,39±0,08% vs. 0,68±0,08%; $P=0,025$), por lo que al analizar muestras con cantidades relevantes de grasa parece recomendable calcular la fracción EE_{RIE} o bien realizar una extracción previa con éter, ya que empleando el método original este EE residual es contabilizado erróneamente como FSDN.

En consecuencia, el protocolo modificado quedó establecido según muestra la Figura 1 y la FSDN se calculó con la expresión:

$$FSDN = MO_{RIE} - FND_{RIE} - ALMIDÓN_{RIE} - PB_{RIE} + PB_{FNDRIE}$$

La Tabla 2 muestra que el análisis de FSDN sólo es moderadamente repetible, ya que las diferencias entre las dos series de análisis realizadas por un mismo analista (A: 19,61±0,48% vs. 18,03±0,48%, $P=0,044$; B: 20,87±0,48% vs. 19,26±0,48%, $P=0,040$) fueron significativas, aunque dentro de las esperables si consideramos que el método se basa en dos procesos extractivos. Probablemente, este déficit de repetibilidad es el origen de que las diferencias entre analistas no fueran significativas (18,82±0,80% vs. 20,07±0,80%, para A y B respectivamente, $P=0,385$). Como era de esperar, los piensos presentaron diferencias significativas entre ellos ($P<0,001$) puesto que fueron diseñados para alcanzar distintos niveles de FSDN.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Association of Official Analytical Chemists. 2000. Official methods of analysis of the AOAC International, 17th ed. AOAC International, Gaithersburg, MD (USA).
- Batey, I.L. 1982. Starch analysis using thermostable alpha-amylases. *Starch* 34: 125–128.
- Hall, M.B., Lewis, B.A., Van Soest, P.J., Chase, L.E. 1997. A simple method for estimation of neutral detergent-soluble fibre. *J Sci Food Agric* 74: 441-449.
- Statistical Analysis Systems Institute. 2002. User's guide, Release 9.1. SAS Institute Inc, Cary, NC (USA).

Agradecimientos: este trabajo ha sido financiado por AGL2006-07596.

Tabla 1. Efecto del material sometido a extracción con detergente neutro sobre el contenido en FND y PB_{FND} (% de MS, LSM±SE)

	Periodo 1		Periodo 2		Material	Periodo	P	Mat*Per
	MI ¹	RIE ¹	MI ¹	RIE ¹				
FND	47,61±0,43	46,40±0,53	45,41±0,37	44,07±0,37	0,016	<0,001	0,881	
PB_{FND}	2,59±0,12	2,06±0,15	2,47±0,11	2,22±0,11	0,012	0,857	0,281	

¹ MI: FND obtenida a partir de la muestra íntegra; RIE: FND obtenida a partir del residuo insoluble en etanol

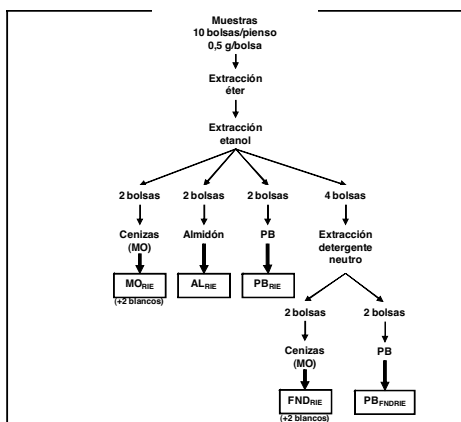


Figura 1. Esquema del protocolo modificado para el análisis de la FSDN.

Tabla 2. FSDN (% de MS) de 4 piensos en función del analista y de la serie o periodo de análisis

	Analista A		Analista B		Pienso	P	
	Serie 1	Serie 2	Serie 3	Serie 4		Analista	Serie(analista)
P1	12,01	11,74	15,75	14,22			
P2	18,74	17,34	19,42	18,96	<0,001	0,385	0,026
P3	25,67	23,21	25,53	22,90			
P4	22,02	19,83	22,79	21,85			

DETERMINATION OF NEUTRAL DETERGENT SOLUBLE FIBRE: MODIFICATIONS OF THE ORIGINAL METHOD

ABSTRACT: The definition and analysis of the fibrous fraction is a classical problem in animal nutrition and there have been some different attempts to determine it developing more accurate methods. One of them introduces a fraction called neutral detergent soluble fibre (NDSF) in which are included soluble and insoluble pectins, soluble hemicelluloses (arabinoxylans and β -glucans), fructans and oligosaccharides. The method is based in mass changes amongst extracted residues. This study tried to modify this protocol to adapt and improve it. The first modification was the adaptation of the methodology to the ANKOM extractor using nylon bags with a porosity of 25 μ m. The second change was obtaining the NDF on the ethanol insoluble residue instead of on the whole sample, to avoid double subtraction of a fraction which is soluble in ethanol but insoluble in neutral detergent. The last modification was the addition of an ether extraction previous to the analysis of feed with relevant quantities of fat. NDSF analysis according to the modified protocol seemed to be as repeatable as expected in a double extraction based method.

Keywords: neutral detergent soluble fibre