

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID

FACULTAD DE VETERINARIA

TRABAJO FIN DE GRADO EN VETERINARIA



“ANÁLISIS DE LA CALIDAD DE LOS GERMINADOS EN ALIMENTACIÓN EQUINA”

Lorena Aceituno Corona

Madrid, 2018

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID

FACULTAD DE VETERINARIA

TRABAJO FIN DE GRADO EN VETERINARIA



ANÁLISIS DE CALIDAD DE LOS GERMINADOS EN ALIMENTACIÓN EQUINA

MEMORIA PARA OPTAR AL TÍTULO DEL GRADO EN VETERINARIA

AUTOR: Lorena Aceituno Corona

BAJO LA DIRECCIÓN

TUTOR/ES: Almudena Rebolé Garrigós / Luis T. Ortiz Vera

Departamento de Producción Animal

Madrid, 2018

"ANÁLISIS DE CALIDAD DE LOS GERMINADOS EN ALIMENTACIÓN EQUINA"

AUTOR:

TUTOR/ES:

Prof. Dr./Dra.

Almudena Rebolé Garrigós

Fdo:.....

Prof.

Dr./Dra. Luis T. Ortiz Vera

Fdo:.....

DEPARTAMENTO/CENTRO AL QUE PERTENECE EL TUTOR/TUTORES:

Fdo:.....

En Madrid, a _____ de _____ de 20____

ÍNDICE

1. Resumen / Abstract.....	3
2. Introducción	5
3. Justificación y Objetivos	9
4. Material y métodos.....	10
5. Resultados y discusión.....	17
6. Conclusiones / Conclusions.....	27
7. Bibliografía	29
8. Anexos.....	32

“ANÁLISIS DE CALIDAD DE LOS GERMINADOS EN ALIMENTACIÓN EQUINA”

1. RESUMEN

Antiguamente, el caballo era un animal de granja cuya función principal era ayudar en las labores de campo y que se alimentaba fundamentalmente de pastos naturales. Actualmente, esa situación ha cambiado y es importante conocer las repercusiones que la estabulación ha supuesto en la fisiología de este animal de cara a intentar solventar los problemas digestivos que están apareciendo, puesto que las condiciones de manejo actuales de la mayoría de los caballos distan de forma significativa de su forma natural.

En la actualidad, estos problemas podrían subsanarse utilizando productos de calidad. Los germinados podrían ser una opción acertada y novedosa, puesto que presentan una serie de características que proporcionan beneficios en la salud de estos animales. El proceso de germinación determina ciertos cambios específicos en el valor nutritivo de las semillas debido a la transformación de moléculas complejas en moléculas más sencillas, más fáciles de asimilar y con una concentración más alta de vitaminas, minerales y otros componentes.

El objetivo de este trabajo es valorar el posible uso de diferentes mezclas de germinados en alimentación equina llevando a cabo el estudio de la composición químico-bromatológica y el perfil de aminoácidos y ácidos grasos de los mismos. Para ello, se han utilizado diferentes mezclas de germinados que se corresponden con cereales, una leguminosa y una oleaginosa. El primer germinado es únicamente de trigo (*Triticum aestivum L.*), el segundo es una mezcla de trigo y cebada (*Hordeum vulgare L.*), el siguiente es una mezcla de trigo, cebada y girasol (*Helianthus annuus L.*) y por último, un germinado mezcla de trigo, cebada y guisante (*Pisum sativum L.*). Estas muestras son analizadas por el método oficial de análisis de la AOAC y por otros sistemas analíticos que permiten valorar de manera específica cada componente químico que contienen las diferentes mezclas de germinados por separado.

Los resultados obtenidos demuestran que la inclusión de estos productos en la dieta equina podrían mejorar la calidad nutricional de la ración de una forma más saludable. Aunque el sistema de la germinación y sus productos sea una opción novedosa y aún en proceso de investigación, los germinados pueden ser una opción interesante en el futuro de la alimentación equina.

Palabras clave: Germinado, Alimento saludable, Caballo.

1. ABSTRACT

The horse was formerly a farm animal whose main task was to help in the field work and it was mainly fed on natural pastures. Currently, this situation has changed and it is important to know the repercussions that stabling has involved in the physiology of this animal in order to try to solve the digestive problems emerged, since the current management conditions of most horses are so far from its natural way.

Nowdays, these problems could be overcome by using quality products in the horse's diet. Sprouts could be an appropriate and novel option, which present a series of characteristics that provide benefits in the health of these animals. Germination process modify the nutritive value of the seeds due to the transformation in the simplest molecules, easier to assimilate and with a higher concentration of vitamins, minerals and other components.

The aim of the survey is to evaluate the possible use of different mixtures of sprouts, carrying out the study of the chemical composition and the profile of amino acids and fatty acids. To do this, we have used different mixtures of sprouts that correspond to cereals, a legume and an oilseed. The first sprout is wheat (*Triticum aestivum L.*), the second one is a mixture of wheat and barley (*Hordeum vulgare L.*), the next one is a mixture of wheat, barley and sunflower (*Helianthus annuus L.*) and finally, a mixture of wheat, barley and pea (*Pisum sativum L.*). These samples are analyzed by the official method of analysis of the AOAC and by other analytical systems which allow us to evaluate each component containing the different mixtures of sprouts.

The results obtained show that the inclusion of these products in the equine diet might allow to increase the nutritional quality of the diet in a more healthy way. Although the germination system and its products are a novel option and still under investigation, sprouts may be an interesting option in the future of equine feeding.

Keywords: Sprout, Healthy feed, Horse.

2. INTRODUCCIÓN

La industria del caballo se ha convertido en una potencia en diferentes áreas de la agricultura, además, se ha producido un incremento en la investigación de la alimentación equina debido a la popularidad y el impacto económico de la industria de los caballos. Las ventas de alimentos de alta calidad los últimos años han aumentado al mismo tiempo que el precio de dichos productos, no sólo por el número de caballos, sino también por la demanda de los mismos para mantenerlos completamente satisfechos y sanos en lugar de simplemente satisfacer necesidades nutritivas (1).

De forma natural, la alimentación del caballo debe ser a base de forrajes frescos introducidos en pequeñas cantidades y con largos periodos de ingesta. Hoy en día, las condiciones de manejo de los caballos son muy diferentes a su forma natural. El caballo a lo largo de los años ha ido evolucionando y adaptándose a diferentes circunstancias, ya que hace unos años el caballo era un animal de pasto con un sistema intestinal adaptado a un movimiento y alimentación continua. La domesticación ha ido modificando completamente sus hábitos de vida, en primer lugar, restringiendo su movimiento, en segundo, modificando la frecuencia de su alimentación y variando el tipo de alimento, que en la actualidad incluye además de diferentes forrajes, alimentos muy energéticos como puede ser el grano o el pienso compuesto (2).

Debido a la ausencia de pastos y de espacio se han sustituido estas condiciones por un box de reducido tamaño y un alimento concentrado. En algunas zonas, estos cambios han supuesto el aumento de la presentación de ciertas enfermedades o alteraciones digestivas como son los cólicos y las úlceras gástricas. Como consecuencia de estar mucho tiempo inactivo en el box sufren alteraciones en su comportamiento como son: aerofagia, coprofagia, y diferentes estereotipias. Por otro lado, también alteraciones nutritivas como bajo rendimiento y la mala nutrición (2).

La microbiota varía en función del tipo de dieta, siendo distinta la del animal alimentado a base de hierba de aquel que se alimenta fundamentalmente de pienso concentrado. Cuando la dieta se modifica de forma repentina, se rompe el equilibrio en el que se mantienen estos microorganismos dentro del intestino pudiendo causar alteraciones. Por otro lado, la fibra vegetal es digerida por las bacterias produciendo ácidos grasos volátiles que son absorbidos en

sangre y convertidos en energía, siendo más del 70 % de la energía utilizada por el caballo de este tipo. Cuando la alimentación está compuesta básicamente de piensos concentrados, el intestino delgado no es capaz de absorber los nutrientes que en él se encuentran, pasando el alimento restante al intestino grueso en donde puede causar importantes trastornos digestivos. Si se conoce la fisiología, anatomía y las necesidades de los caballos se puede compensar la falta de condiciones naturales como el pasto y el ejercicio con buenas prácticas alimentarias como son aportar una importante cantidad de forraje en su dieta, administrar el pienso en pequeñas y frecuentes tomas, preferentemente después del forraje, realizar revisiones dentales periódicas y asegurar un tiempo de ejercicio diario (3).

Hoy en día, existe una diversa gama de productos en alimentación equina. El concentrado se incluye en la ración en forma de pienso compuesto y esto permite alcanzar de manera rápida las necesidades energéticas de los caballos, aun así, el elemento fundamental en la dieta equina debería ser el forraje. El pienso contiene diferentes tipos de semillas que a menudo deben ser modificadas para poder aumentar su digestibilidad mediante diferentes métodos, sin embargo, estos métodos presentan ciertos inconvenientes puesto que los nutrientes se degradan en el proceso necesitando así la ayuda de un corrector químico (4).

En caballos de competición una opción adecuada podría ser los germinados de cereales, leguminosas y otras semillas ya que previenen alteraciones gástricas e intestinales, por su contenido en enzimas, clorofila, vitaminas y minerales, colaborando en la digestión de los alimentos, favoreciendo su asimilación y correcta utilización por parte de las células, es ideal para caballos como método de prevención del cólico, siendo el cólico uno de los principales motivos de muerte en este animal. Además, en caballos de alto rendimiento podría ser favorable para reponer gran cantidad de minerales que han perdido por el sudor, la cebada germinada por su poder alcalinizante, puede contrarrestar los efectos de la acidosis producidos en los períodos de máximo esfuerzo muscular (4).

Los germinados son muy palatables y tienen un alto valor nutritivo, así como un efecto positivo en la prevención de ciertas patologías digestivas. La germinación provoca cambios en las características nutritivas de la semilla debido a que por efecto de la acción enzimática se rompen las macromoléculas de reserva descomponiéndolas en fracciones más simples y digestibles. (5,6).

La germinación da lugar a una predigestión de las semillas, incrementando la digestibilidad de las mismas. De la misma forma, se activan las enzimas que se encargan de movilizar las reservas

energéticas contenidas en el grano y las transforman en nutrientes básicos asimilables, además, el caballo es un animal herbívoro, con lo cual, se trata de un animal perfectamente adaptado a la asimilación de hierba y germinados. La inclusión de estos productos en la alimentación de los caballos como suplemento permite no solamente aumentar la calidad nutricional de la ración de una forma más natural sino que además, ayuda a prevenir ciertas patologías como los cólicos, las úlceras gástricas, y otras patologías relacionadas con la alimentación. (5,6).

La germinación es un proceso complejo que se ha estado realizando desde hace muchos años en países asiáticos. En los últimos años, el consumo de brotes ha ido aumentando en diferentes países debido a la reciente popularidad de productos y alimentos saludables y a una mayor preocupación por la salud y la prevención de diferentes enfermedades. El proceso de germinación determina ciertas modificaciones en las características nutritivas de las semillas debido a la disgregación de algunas moléculas complejas (como por ejemplo la proteína o el almidón) por acción enzimática, dando lugar a unas moléculas más sencillas (como por ejemplo aminoácidos o glucosa). Dichas moléculas presentan mayor digestibilidad. Por otro lado, este proceso afecta a la cantidad de minerales, vitaminas y diferentes compuestos fitoquímicos. El proceso de germinación es por tanto un sistema que proporciona productos que disponen de una alta palatabilidad y que contienen un alto nivel nutritivo y un efecto beneficioso para la salud y que además presenta un papel importante en la prevención de problemas de ciertas enfermedades (5).

Además, el sistema de producción de germinados presenta una serie de ventajas, entre ellas se encuentra el ahorro de espacio y de agua. Por otro lado, este sistema no utiliza la recirculación de agua ni aporte de nutrientes, lo cual, permite un mayor ahorro en comparación con otros métodos más tradicionales. Esto a su vez permite que se pueda llegar a desarrollar este tipo de sistemas en zonas más áridas o con pocos recursos de acceso al agua. El costo de producción es 10 veces menor que el de una superficie para la producción de cualquier forraje en espacios abiertos, esa ventaja es debida a que la instalación para obtener productos germinados puede ser ubicada en forma vertical, lo que optimiza el espacio útil (FAO, 2001) (7).

En este sistema de producción, los germinados se recolectan a los 6 días debido a que a partir de ese momento la semilla comienza a utilizar un exceso de energía y nutrientes que deberían ser aportados durante el cultivo. El producto obtenido presenta un gran valor nutricional debido a la germinación de los granos (Arano 1998, Rodríguez 2003). La germinación facilita la

posterior asimilación de vitaminas liposolubles, minerales, biotina o carotenos, mejora la digestibilidad y colabora en el mantenimiento de la microbiota intestinal (8).

El inconveniente de los germinados es el bajo contenido en materia seca, lo que puede resolverse agregando diversos rastrojos para complementar la ración. Además, a pesar de toda la investigación que se ha realizado sobre el proceso de germinación, todavía no es posible saber cuál es el evento celular esencial para que la germinación se complete. Aunque existe una fuerte evidencia de la participación de las hormonas, se desconoce aún mucha información (9).

Hasta el momento no se conoce de forma precisa y completa lo que ocurre durante la germinación de la semilla. No obstante, el progreso reciente ha proporcionado mucha información para los cambios que se producen durante la germinación y que, a través de la manipulación genética, pueden ayudar a su mejora. Existen desafíos para mejorar la velocidad y el porcentaje de germinación en los cultivos hortícolas y agronómicos. El éxito se ha logrado sobretodo a pequeña escala, para las semillas sembradas en condiciones ambientales controladas (por ejemplo, invernaderos), mientras que los resultados para los plantados en el campo pueden ser más variables, dependiendo de las condiciones climáticas y del suelo (9).

La viabilidad, calidad y el vigor de la semilla son aspectos importantes para determinar el éxito de un cultivo. Muchos factores influyen en estos atributos, entre ellos las condiciones de almacenamiento a las que están sometidas las semillas maduras. Sería ideal para los productores y distribuidores, saber cuál es la calidad de un lote de semillas antes de la siembra. Se están usando varias pruebas de vigor, aunque se necesita más información para identificar marcadores bioquímicos o moleculares concretos de deterioro que puedan predecir un cultivo deficiente. Por lo tanto, aunque la comprensión de los eventos celulares y moleculares que ocurren durante la germinación de la semilla se está ampliando, los eventos que son críticos para su finalización deben ser aclarados, como un inicio a la aplicación de tecnologías moleculares para mejorar y controlar este paso vital en la vida vegetal (9).

3. JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVOS

Como se ha comentado anteriormente, los problemas más frecuentes en la especie equina son principalmente enfermedades digestivas, muchas de ellas relacionadas con el cambio de hábitat que han sufrido debido a la estabulación, al cambio de dieta y a la limitación del movimiento.

El principal objetivo de este trabajo es analizar la composición química de germinados de cereales mezclados con leguminosas y/o oleaginosas estudiando los nutrientes más importantes de cara a ser utilizados en alimentación en caballos por sus posibles beneficios y disminución de la incidencia en patologías digestivas citadas anteriormente y ofrecer a los animales estabulados una alimentación lo más natural posible y similar a la que consumen los caballos en libertad y todo ello sin la limitación que supone la dependencia estacional de los pastos de calidad, controlando a su vez la higiene y su valor nutricional.

Con el objetivo de estudiar la posibilidad del empleo de estos germinados en los caballos y de estudiar su valor nutritivo, se ha procedido al estudio de la composición químico-bromatológica de diferentes mezclas de germinados, así como el estudio de la composición en el perfil de aminoácidos y ácidos grasos.

4. MATERIAL Y MÉTODOS

4.1 Materiales

Los materiales analizados en este trabajo son distintas mezclas de germinados que se corresponden con dos cereales, una leguminosa y una oleaginosa. El primer germinado es únicamente de trigo (*Triticum aestivum L.*), el segundo es una mezcla de trigo y cebada (*Hordeum vulgare L.*), el siguiente es una mezcla de trigo, cebada y girasol (*Helianthus annuus L.*) y por último, un germinado mezcla de trigo, cebada y guisante (*Pisum sativum L.*). Estos germinados son procedentes de la empresa Equinocol S.L. (Cercedilla, Madrid, España).

Para la obtención de dichos germinados, las semillas se extendieron en bandejas de plástico y se germinaron en una cámara de germinación comercial equipada con riego por pulverización automática y temperatura, humedad e iluminación controladas. Al final de la germinación, se eligió 1 bandeja y se tomaron 4 alícuotas para tener 4 submuestras de cada tipo de germinado. En la imagen 4.1 se muestran dos de los germinados analizados en este trabajo.

Estas semillas se sometieron previamente a un tratamiento con una disolución de hipoclorito de sodio, se lavaron a continuación con agua y se colocaron en bandejas de plástico en una cámara de germinación propiedad de la empresa Equinocol S.L., con riego automático, temperatura, humedad e iluminación controladas durante 6 días. Al final de la germinación, se tomaron muestras representativas de cada uno de los germinados, que se trasladaron a la Facultad de Veterinaria y posteriormente se llevaron a liofilizar en un liofilizador Telstar. Seguidamente, se determinó su humedad original pesando una bandeja con muestra antes y después del proceso. Después de liofilización, se molieron a 1 mm para su posterior análisis y a 0.5 mm para determinación de la proteína y el análisis de aminoácidos. Por último se procedió a conservación en recipientes de plástico cerrados con su correspondiente etiquetado a una temperatura de -20°C en un congelador en el laboratorio.

4.2 Métodos

Composición químico-bromatológica

El contenido en humedad, cenizas, proteína bruta y grasa bruta fue determinado por el Método de la AOAC (1995) que consiste en un sistema analítico que, además de determinar la humedad, analiza cuatro fracciones químicas: proteína bruta, grasa bruta o extracto etéreo, cenizas brutas y extractivos libres de nitrógeno. Esta denominación de fracciones brutas se justifica porque ninguna de ellas tiene una composición química definida. Todos los análisis se realizaron en el laboratorio de Agronomía del Departamento de Producción Animal. (10,11)

Humedad

Se define la humedad de una muestra como la pérdida de peso que se calcula de la siguiente manera, consiste en pesar la muestra en un recipiente tarado del cual sabemos su peso, colocarlo en una estufa y volver a pesar hasta pérdida de peso constante.

Se pesan en un vaso de precipitados 2 g de muestra y se reparten sobre el fondo del recipiente. El recipiente se introduce después, en la estufa calentada a 103°C. Al cabo de 24 horas, se saca el vaso de precipitados de la estufa y se introduce en un desecador. Cuando ha alcanzado la temperatura ambiente, se pesa. En este caso se dejaron las muestras en la estufa hasta el día siguiente.

Cenizas brutas

Las cenizas brutas corresponden al residuo resultante de la incineración de la muestra a una temperatura determinada. Este residuo no representa exactamente a las sustancias minerales originales de los tejidos de las plantas, ya que la calcinación descompone tales sales y también se encuentran presentes algunos elementos que forman parte de moléculas orgánicas. Hay que señalar también, que esta fracción puede contener materias extrañas a la planta.

Se pesan de 2,5 a 5 g de muestra en un crisol de incineración. Se introduce el crisol con la muestra en un horno hasta la obtención de cenizas blancas, gris claro o rojizas. Se retira del horno el crisol con las cenizas, se enfría y se pesa. La diferencia entre el peso del crisol con las cenizas y el peso del crisol vacío da la cantidad de cenizas de la muestra.

Proteína bruta

El contenido en proteína de un alimento se consigue determinando la cantidad de nitrógeno y se calcula la cantidad de proteína y multiplicando este valor por el “factor 6,25”.

Se introducen, en un tubo de digestión de nitrógeno, 0,5 g de muestra. A continuación, se añaden pastillas catalizadoras compuestas de sulfato de potasio y óxido de cobre y 15 ml de ácido sulfúrico concentrado homogeneizando la mezcla. Se coloca el tubo en el digestor. El digestor se enciende para que el tubo alcance 420°C (2 h). El tubo con el líquido transparente se deja enfriar antes de hacer la destilación. El amoníaco recogido en la solución de ácido bórico al 4% se valora con una solución de ácido sulfúrico 0,1N hasta obtención de coloración azul. La aparición de color morado indica que se ha sobrepasado el punto de equivalencia. A continuación, se procede a realizar la valoración. El volumen de ácido sulfúrico 0,1N gastado se multiplica por 0,0014, obteniéndose la cantidad de nitrógeno presente en la muestra. Multiplicando esta cantidad de nitrógeno por 6,25 se obtiene, a su vez, la cantidad de proteína bruta.

Grasa bruta

Para la determinación de la grasa bruta, se pesan aproximadamente 2 g de muestra y se introducen en el papel de filtro. Se coloca el cartucho con la muestra dentro del cuerpo extractor Soxhlet, y se le adapta el matraz. Se añade disolvente (éter) al extractor hasta que sifone y caiga al matraz mediante el tubo lateral. Se vuelve a añadir un volumen suficiente de disolvente. Se adapta el refrigerante de reflujo y se calienta hasta ebullición. Los vapores de éter etílico se condensan en el refrigerante y caen en forma de gotas al extractor, el cual sifonará cuando esté lleno. Se consigue así extraer numerosas veces la muestra con muy poco volumen de disolvente. Una vez extraída toda la grasa, el extractor junto con el matraz se separan del refrigerante, procurando que el extractor esté relativamente lleno de disolvente. El matraz con la grasa bruta se deseca en estufa durante una hora, luego se saca de la estufa el matraz, se deja enfriar en un desecador y se pesa. La diferencia entre el peso del matraz con la grasa y el peso del matraz vacío da la cantidad de grasa que contiene la muestra.

Fracción Fibra

La fracción fibra y sus componentes se determinaron siguiendo el sistema de detergentes, para poder estimar la calidad de un forraje se lleva a cabo el estudio de dos fracciones químicas relacionadas con el contenido en fibra: Fibra neutro Detergente (FND) relacionada con el consumo voluntario y la Fibra Ácido Detergente (FAD), relacionada con la digestibilidad. En un primer paso, la muestra se trata con una solución de detergente neutro (NDS) y se enjuaga con una amilasa termoestable para que los azúcares, los almidones y las pectinas sean solubles. El residuo restante consiste en las sustancias de pared celular no o menos digeribles hemicelulosa, celulosa y lignina. En un segundo paso, la hemicelulosa se vuelve soluble usando un solvente detergente ácido. El residuo, que consiste en celulosa y lignina, se trata luego con ácido sulfúrico concentrado, disolviendo la celulosa y dejando la lignina en el residuo. Estos pasos se pueden realizar de forma consecutiva o por separado para determinar la Fibra Neutro Detergente (FND), la Fibra Ácido Detergente y la Lignina Ácido Detergente (LAD). (19)

Fibra Neutro Detergente

La Fibra Neutro Detergente es el residuo resultante del tratamiento de la muestra de forraje con una disolución de sulfato de lauril sodio a pH neutro. Corresponde, aproximadamente, a la pared celular, que constituye la parte fibrosa del alimento vegetal. La fracción Solubles Neutro Detergentes se identifica con los constituyentes que forman el protoplasto, correspondiendo a la parte más digestible del forraje.

Se pesan 0,5-1,0 g de muestra en un vaso de Berzelius y se añaden 100 mL de disolución neutro-detergente y 0,2 mL de amilasa termoestable. Se coloca el vaso en la placa calefactora, se adapta el matraz refrigerante y se regula la temperatura de manera que se lleve a ebullición durante 60 minutos. Transcurrido este tiempo se filtra con ayuda de vacío y se lava varias veces el residuo con agua destilada. El crisol con la FND se deseca en estufa, se enfría en desecador y se pesa. La diferencia entre el peso del crisol con el residuo y el peso del crisol vacío es la cantidad de FND que contiene la muestra.

Fibra Ácido Detergente

La Fibra Ácido Detergente es el residuo resultante del tratamiento de la muestra con una disolución de un detergente catiónico, bromuro de cetiltrimetilamonio, en medio ácido 1N.

Se pesa 0,5-1,0 g de muestra de forraje y se deposita en un vaso de Berzelius, añadiendo 100 mL de disolución ácido detergente y se procede de la misma manera que el método anterior. La diferencia entre el peso del crisol con el residuo y el peso del crisol vacío es la cantidad de FAD que contiene la muestra. Se calcula el porcentaje de FAD en MF y MS.

Lignina Ácido Detergente

Se trata de cuantificar, a partir del residuo de FAD, la lignina de la muestra de forraje mediante tratamiento de la FAD con ácido sulfúrico se disuelve la celulosa, dejando un residuo compuesto principalmente por lignina. (LAD).

El crisol con la FAD se coloca en una bandeja de plástico y se le añade ácido sulfúrico primero, hasta cubrir el residuo y luego hasta que alcance las tres cuartas partes de la capacidad del crisol y se homogeniza. Transcurridas 3 horas se filtra con ayuda de vacío para eliminar el ácido y se lava 5 veces el residuo con agua caliente. El crisol con el residuo se seca en estufa, se enfría en un desecador y se pesa. La diferencia de peso entre el crisol con el residuo y el crisol vacío es la cantidad de LAD.

Cálculo de ELN

Se llevó a cabo una estimación de los carbohidratos digestibles, expresados en la fracción ELN y calculados no por análisis directo, si no que se calcula por diferencia, incluye las sustancias que en parte se solubilizan al determinar la fibra bruta. Esta fracción es la que constituye la mayor parte de la materia seca de granos y forrajes.

Se calcula de la siguiente manera: % ELN en MS= $100 - (\%PB + \%GB + FND\% + \%CB)$.

Ácidos grasos

Para llevar a cabo el análisis de los ácidos grasos, se tomaron las muestras del extracto grasa que previamente se habían obtenido por el método anterior y se metilaron con una mezcla de trifluoruro de boro, hexano y metanol (35:20:45, v/v/v). Los ácidos grasos esterificados se separaron en una columna capilar de vidrio (Tecknokroma SupraWax-280; 60 m 0.25 mm; 0.15 μ m espesor de película) unido a un cromatógrafo de gases Varian CP-3800 (Varian Analytical

Instruments, Walnut Creek, CA, EE. UU.), equipado con un detector de ionización de llama. El análisis se realizó con un programa de temperatura de 170 a 250 C a una velocidad de 3.5 Cmin⁻¹. El gas portador era nitrógeno a una velocidad de flujo de 4,5 ml min⁻¹. Se utilizó ácido pentadecanoico como el estándar interno. Los picos cromatográficos se identificaron mediante comparación de sus tiempos de retención con los de patrones de éter metílico de ácidos grasos (Sigma-Aldrich Química). Las concentraciones relativas de cada ácido graso se expresaron como porcentaje de ácidos grasos totales.

Aminoácidos

Previamente se lleva a cabo la hidrólisis de la proteína. Se pesan 100 mg de muestra molida a 0.5 mm y se introducen en un tubo de ensayo Pyrex con tapón de rosca, añadiendo 10 mg de fenol y 25 mL de HCl 6N. A continuación, se burbujea el tubo con nitrógeno para desalojar el aire, se tapa y se introducen en una estufa a 110°C durante 22 h.

Transcurrido ese tiempo, el tubo con el hidrolizado de proteína se saca de la estufa y se deja enfriar, traspasando el contenido a un matraz mediante filtración con papel de filtro. El filtrado se lleva a pH neutro con una disolución de NaOH y midiendo el pH con un pH-metro Crison previamente calibrado, transfiriéndose el contenido a un matraz aforado de 100 mL y enrasando con agua Milli-Q. Se toma una alícuota del filtrado, se pasa por un cartucho Sep-Pack (Waters) con ayuda de una jeringa y se transfiere a un vial de 2 mL, encapsulándose y conservando a -20°C hasta su análisis.

El análisis de aminoácidos se llevó a cabo mediante derivatización en precolumna con o-ftaldialdehído en un tampón borato pH 10,4. Los aminoácidos de los hidrolizados se separaron, identificaron y cuantificaron utilizando un HPLC 1100 (Agilent Technologies GmbH, Walbronn, Alemania) equipado con un detector de fluorescencia, una columna C-18 en fase reversa (Hypersil AA-ODS) y una precolumna (Hypersil 5-ODS, Agilent Technologies). Se utilizó un programa de inyección automático para el sistema de derivatización.

Análisis estadístico

Por último, en cuanto a la estadística, los datos se analizaron aplicando el análisis de varianza simple para analizar las medias y se compararon utilizando el test de la Diferencia Media Significativa (LSD) al nivel de probabilidad del 0.05. (Statgraphics)

5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la Tabla 5.1 se presentan los resultados de la composición químico-bromatológica de los germinados estudiados.

Tabla 5.1 Composición químico-bromatológica de germinados de 6 días (% en MS).

Tratamiento	CB	PB	GB	FND	FAD	LAD	ELN
Trigo	2,13	22,01 ^a	4,17 ^a	35,02 ^a	15,19 ^a	2,01 ^a	36,66
Trigo cebada	2,61	20,63 ^{ab}	3,86 ^a	35,16 ^a	13,98 ^{ab}	1,51 ^b	37,74
Trigo cebada girasol	2,36	18,72 ^c	9,16 ^b	31,17 ^b	14,63 ^a	1,58 ^b	38,59
Trigo cebada guisantes	2,51	20,10 ^{bc}	3,18 ^c	32,72 ^b	12,39 ^b	0,99 ^c	41,48
Error Estándar	0,135	0,545	0,158	0,609	0,490	0,119	1,038
<i>p</i>	0,1467	0,0173	0,0000	0,0044	0,0185	0,0022	0,0530

Diferentes letras en subíndice en la misma columna indican diferencias significativas ($P < 0,05$).

Cada dato corresponde a la media de tres réplicas.

En la tabla 5.1 se observa que el contenido en proteína bruta (PB) es mayor en el germinado de trigo individual. Los germinados de trigo y cebada y trigo más guisante se encuentran en proporciones muy similares, es decir, en este caso la diferencia no es significativa. En cuanto al contenido proteico, otros estudios señalan que la cantidad de proteína del guisante es mucho mayor. Tal y como señala Ortiz L.T. en su estudio de la valoración nutritiva de germinados, el contenido de proteína en el guisante era de 22.38 en % de MS, sin embargo, en nuestra tabla aparece un contenido de proteína bruta de 20.10, esto puede ser debido a que no se trata de germinado puro sino de mezclas de germinados, al estar la cebada podría bajar la proporción de PB. En este estudio, los autores afirman haber estudiado el aumento en el contenido de cenizas, proteína bruta, grasa bruta y fibra bruta en el germinado comparándolo con la semilla, más acusado en el caso de los cereales, así como una disminución del contenido en almidón. (5)

En cuanto al contenido en grasa bruta (GB) se observa que la mayor cantidad de GB lo presenta el germinado de trigo, cebada y girasol con una diferencia muy significativa. Lo cual es lógico debido a la presencia de una oleaginosa en dicha mezcla. Según el estudio de la valoración nutritiva de germinados el girasol presenta un contenido de GB de 40,07. Según afirman Arija, el girasol es un alimento potencial puesto que dispone de una alta concentración energética y proteica. Esto podría resultar interesante de cara a una alimentación en caballo de competición sometidos a un gasto y un esfuerzo físico importante. (12)

Por otro lado, en la fracción fibra se observa el contenido en fibra neutro-detergente (FND), donde hay una mayor cantidad de la misma en los germinados de trigo y en el de trigo y cebada. En el germinado de trigo, cebada y girasol se disminuye la cantidad de FND. En la siguiente columna, se valora la cantidad de FAD. En esta se afirma que no hay grandes variaciones significativas en este factor. El que obtiene una mayor cantidad de FAD es el trigo pero se encuentra con un valor muy similar al germinado de trigo, cebada y girasol. El germinado de guisante tiene un menor contenido de FAD. Por último, se observa la concentración de Lignina, siendo mayor la cantidad de la misma en el germinado de trigo. En el caso particular de la cebada germinada, algunos estudios, reportan incrementos en fibra neutro detergente (FND) y en fibra ácido detergente (FAD).

Con respecto a la FAD, se observa que el trigo y la mezcla con el girasol presenta un contenido mayor. La FAD sería un valor similar al de la Fibra Bruta y por tanto comparándolo con otros artículos (10), donde se analizaron la FB de los germinados de trigo, cebada, guisante y girasol,

se observa que en la oleaginosa se produce un aumento significativo del valor de FB. Mientras que la cebada, el trigo y el guisante presentan un 9,07, 7,28 y 7,63 respectivamente, el girasol presenta un 23,38, es decir un valor muy superior al del resto de germinados. En nuestro caso, el trigo y la mezcla de trigo, cebada y girasol presentan valores muy similares cuya diferencia no es significativa. (5,17)

Para finalizar, se expresa la cantidad de carbohidratos no incluidos en la fibra bruta, como son azúcares, almidón, fructanos..etc. Estos azúcares son mayores en el germinado de trigo, cebada y guisante que en el resto de germinados. En el caso de la cebada, aumentan los carbohidratos solubles en agua, mientras que la materia orgánica (MO) y los carbohidratos no fibrosos, disminuyen al inicio de la germinación, en comparación a la semilla de cebada.

En la Tabla 5.2 se presenta los resultados del análisis de Ácidos grasos de los germinados estudiados.

Tabla 5.2 Análisis de los Ácidos grasos de germinados de 6 días % sobre el total de Ácidos grasos.

Tratamiento	Trigo	Trigo cebada	Trigo Cebada Girasol	Trigo Cebada Guisante	Error Estándar	P
Grasa	4,17 ^a	3,86 ^a	9,16 ^b	3,18 ^c	0,158	0,0000
C14:0	0,37 ^a	0,35 ^a	0,20 ^b	0,34 ^a	0,019	0,0003
C16:0	16,63 ^{ab}	18,04 ^a	9,66 ^c	15,38 ^b	0,637	0,0000
C18:0	1,90 ^a	2,36 ^b	3,32 ^c	2,40 ^b	0,129	0,0001
C18:1	12,03 ^a	14,10 ^b	28,62 ^c	13,50 ^b	0,365	0,0000
C18:2	51,07 ^a	52,65 ^{ab}	54,15 ^c	52,48 ^{ab}	0,602	0,0290
C18:3	11,32 ^a	9,76 ^b	2,73 ^c	10,84 ^{ab}	0,401	0,0000
C20:0	0,33	0,37	0,09	0,17	0,073	0,0731
SFA	19,23 ^{ab}	21,11 ^b	13,26 ^c	18,29 ^b	0,744	0,0001
MUFA	12,03 ^a	14,10 ^b	28,62 ^c	13,50 ^b	0,365	0,0000
PUFA	62,39 ^a	62,41 ^a	56,89 ^b	63,32 ^a	0,543	0,0000
PUFA/SFA	3,27 ^{ab}	2,96 ^a	4,30 ^c	3,50 ^b	0,149	0,0004
n6/n3	4,53 ^a	5,45 ^a	19,88 ^b	4,87 ^a	0,394	0,0000

Diferentes letras en subíndice en la misma columna indican diferencias significativas ($P < 0,05$).

Cada dato corresponde a la media de cuatro réplicas.

En cuanto al perfil de los ácidos grasos, en la tabla 5.2 se observa que las mayores diferencias se producen en el siguiente germinado: germinado de trigo, cebada y girasol debido sin duda, a la presencia del germinado de girasol en la mezcla, lo cual hace variar de manera notable la fracción grasa tanto cuantitativa como cualitativamente. Como se menciona anteriormente, el girasol se trata de una oleaginosa que dispone de un alto valor energético y que podría ser interesante de cara a una dieta en animales sometidos a grandes esfuerzos físicos como caballos de competición. Los ácidos grasos deben de estar equilibrados para ser eficaces.

De manera más concreta, uno de los ácidos grasos principales es el ácido palmítico (C16:0) el cual, se encuentra en mayor proporción en el germinado de trigo y cebada y es significativamente inferior en el germinado que contiene girasol. Este ácido graso es importante ya que suele ser mayoritario en los ácidos grasos saturados. Con respecto al ácido alfa-linoleico (C18:3), se observa un aumento del mismo en el germinado de trigo y sin embargo presenta un valor significativamente inferior en el germinado de trigo, cebada y girasol.

El ácido linoleico (18:2) se encuentra en mayor proporción en el germinado donde está presente el girasol, sin embargo, la diferencia parece no ser significativa, siendo el mayor número 54,15, seguido de 52,48, 52,65 y siendo inferior en el germinado con guisante. Sin embargo, si calculamos este dato en 100 gramos de producto en lugar de calcularlo en porcentaje de GB la diferencia si es importante. Es decir, en el caso del germinado con girasol en 100 gramos de producto habría una cantidad de 4,96 gramos de ácido linoleico, y en el caso del germinado donde está presente el guisante, en 100 gramos habría una cantidad de 1,66 gramos de este ácido graso. En el ácido oleico (18:1) ocurre de forma similar al caso anterior. Se observa que el germinado con girasol tiene una mayor cantidad de este ácido graso, sin embargo, no se aprecia la diferencia que existe entre uno y otro. Si procedemos a realizar los cambios a 100 gramos de producto, el germinado de trigo, cebada y girasol presenta una cantidad de ácido oleico de 2,62 y el de guisante de 0,43 g.

Los ácidos grasos poliinsaturados indispensables que el organismo no es capaz de sintetizar son por definición el ácido linoleico y el ácido alfa-linoleico. El ácido linoleico permite la síntesis de prostaglandinas 1 y 2 y el ácido alfa-linoleico es el precursor de las prostaglandinas 3. El interés en los ácidos grasos linoleico se ha incrementado en todas las especies en los últimos años. (6,12)

Los ácidos grasos esenciales son constituyentes del conjunto de las membranas celulares y precursores de leucotrienos, tromboxanos y prostaglandinas. Además de sus efectos sobre

respuestas inflamatorias, ambos ácidos grasos ayudan al mantenimiento de la estabilidad de la membrana celular, el desarrollo del tejido del sistema nervioso central, la transferencia de oxígeno y las funciones inmunes. También obtuvieron resultados alentadores en estudios llevados a cabo en sementales como un aumento significativo en el número de espermatozoides con forma normal y un aumento en la concentración de espermatozoides en el semen.

En la Tabla 5.3 se presentan los resultados del análisis de Aminoácidos de los germinados estudiados.

Tabla 5.3 Análisis de los Aminoácidos de germinados de 6 días.

Tratamiento	Trigo	Trigo Cebada	Trigo Cebada Girasol	Trigo Cebada Guisante	Error estándar	P
Aminoácidos no Esenciales						
Asp	2,87	2,03	3,17	3,34	0,293	0,0515
Glu	2,87 ^{ab}	2,31 ^a	3,45 ^{bc}	4,12 ^c	0,221	0,0023
Ser	0,83 ^a	0,64 ^b	0,83 ^a	1,01 ^a	0,006	0,0139
Gly	0,24 ^a	0,18 ^a	0,24 ^a	1,24 ^b	0,162	0,0044
Ala	1,17	0,85	1,04	1,18	0,082	0,0748
Tyr	0,67 ^a	0,50 ^b	0,62 ^{ab}	0,75 ^a	0,04610	0,0310
Aminoácidos Esenciales						
Met	0,27 ^a	0,24 ^a	0,26 ^a	0,39 ^b	0,03149	0,0301
Arg	1,16 ^a	0,86 ^b	1,15 ^a	1,41 ^c	0,07694	0,0069
Val	0,93 ^a	0,72 ^c	0,90 ^{ab}	1,05 ^a	0,06314	0,0362
His	1,58 ^a	1,20 ^b	1,60 ^a	2,24 ^c	0,10778	0,0010
Thr	0,87 ^a	0,65 ^b	0,82 ^{ab}	0,32	0,05676	0,0006
Phe	0,81 ^a	0,67 ^a	0,77 ^a	1,05 ^b	0,05829	0,0102
Lle	0,85 ^{ab}	0,66 ^c	0,76 ^{ac}	0,98 ^b	0,05659	0,0201
Val	0,93 ^a	0,72 ^c	0,90 ^{ab}	1,05 ^a	0,06314	0,0362
Leu	1,20 ^{ab}	0,96 ^a	1,11 ^a	1,40 ^b	0,08451	0,0335
Lys	0,96	0,73	0,83	1,14	0,09188	0,0642

Nitrógeno						
Naa	2,48 ^a	1,88 ^b	2,48 ^a	3,20 ^c	0,16732	0,0039
Nk	3,52 ^a	3,30 ^{ab}	2,99 ^c	3,21 ^{bc}	0,08761	0,0175

Diferentes letras en subíndice en la misma columna indican diferencias significativas ($P < 0,05$).

Cada dato corresponde a la media de cuatro réplicas.

Los aminoácidos son importantes para la salud del caballo. El caballo puede adquirir parte de ellos por su propio organismo (aminoácidos no esenciales) sin embargo, existen otros aminoácidos que el caballo no es capaz de crear y que por tanto tiene que adquirirlos a partir de una dieta equilibrada. A estos se les denomina aminoácidos esenciales.

Según los resultados obtenidos en la tabla 5.3, en cuanto a los aminoácidos no esenciales, los datos demuestran que el contenido tanto de ácido glutámico (Glu) como de glicina (Gly) es mayor en el germinado de trigo, cebada y guisante. El guisante al tratarse de una leguminosa, le proporciona a la mezcla una fuente de proteína importante.

En los aminoácidos esenciales se observa que la mayor cantidad de metionina (Met) lo presenta el germinado de guisante. Lo mismo ocurre con la Arginina (Arg) y la Histidina (His). El germinado que contiene menor contenido en Valina (Val) es la mezcla con cebada. El contenido de Fenilalanina (Phe) es mayor en el germinado que contiene guisante. Lo mismo sucede con la Isoleucina (Ile) y la Lisina (Lys). La lisina, la treonina y la metionina podrían ser aminoácidos de los que tenemos que tener mayor preocupación en la dieta de los caballos ya que no vienen en los ingredientes habituales. Los caballos necesitan más aminoácidos cuando están en etapa de crecimiento ya que lo necesitan para poder producir fibra muscular puesto que se construyen a partir de proteínas. Por tanto, en caballos jóvenes es muy importante satisfacer la demanda de aminoácidos ya que esto se traduce en una mejor ganancia de peso y en un mejor índice de crecimiento. Por otro lado, en caballos de alto rendimiento como caballos de competición podrían necesitar aminoácidos adicionales para mantener esa masa muscular en perfectas condiciones. La Leucina se ha demostrado que promueve el crecimiento muscular en otros animales y Graham et al. (1994) evaluó la treonina como un aminoácido potencialmente

limitante, que podría mejorar el crecimiento. Con lo cual, el proporcionar en un germinado la presencia de una leguminosa como el guisante podría resultar interesante, sobretodo en caballos de alta competición en los que los rendimientos tanto físicos como musculares son muy exigentes. (13,14,15)

Si se sigue analizando los datos, se observa que el nitrógeno aminoacídico (encargado de formar los aminoácidos) es mayor en el germinado de trigo, cebada y guisante como cabe esperar, sin embargo, en el caso del Nitrógeno total Kjeldahl (Nk), los resultados indican que es mayor en el germinado de cereales (trigo) que en el de guisante, sin embargo, este dato no es lógico. Esto puede ser debido a que el Nk no sólo incluye el nitrógeno proteico sino también nitrógeno no proteico que no interesa ya que pueden formar parte otros compuestos que no son capaces de formar proteínas.

Por otro lado, para poder calcular el verdadero rendimiento de estos germinados, Sería interesante calcular los datos en materia fresca (MF), ya que, aunque los datos han sido calculados en materia seca y se discuten de la misma forma, debemos saber qué cantidad es lo que le llega realmente al animal. Debemos saber qué cantidad en gramos de cada uno de los componentes analizados es la que alimenta al caballo y, por tanto, para ello se debe de pasar los datos de MS en MF donde también esté presente la humedad original de la muestra.

Tras haber analizado los resultados obtenidos de los diferentes componentes podemos afirmar que la mezcla de germinados son una fuente de alimentación de calidad que proporciona una excelente alternativa al heno seco y a los granos. Por un lado, los cereales mejoran la fracción fibra y además previamente se ha realizado estudios sobre el efecto de la germinación a lo largo de 6 días con respecto a la semilla y se comprobó que a lo largo del período de germinación respecto a la semilla, se produce un aumento del contenido en azúcares, en cereales y leguminosas, que podría relacionarse con la disminución del contenido en almidón, facilitando la digestibilidad del polisacárido. Todo esto es lo que influye en la disminución de la incidencia en los cólicos de los caballos ya que aporta nutrientes fácilmente asimilables por el caballo de una forma más natural y favorece la integridad del tracto digestivo disminuyendo así la aparición de cólicos. En este estudio, se ha querido valorar que además de disminuir las patologías digestivas, realizar mezclas de germinados con leguminosas y oleaginosas aumenta la calidad del producto. Se ha podido observar que la presencia de una oleaginosa como puede ser el girasol, no sólo proporciona un alto nivel energético a la ración debido a su mayor

contenido en GB, sino que también proporciona ácidos grasos esenciales indispensables para llevar a cabo importantes funciones inflamatorias, inmunológicas y protectoras. Por otro lado, la presencia de una leguminosa, como el guisante, ofrece una fuente de proteína y de aminoácidos esenciales que es importante que se incluyan en la dieta de los caballos para poder tener un adecuado crecimiento y un componente muscular adecuado ya que por ellos mismos no los pueden crear y los tiene que obtener de la ración. Por todo esto, se puede confirmar que la utilización de germinados mixtos es una opción saludable y de calidad para añadir en la dieta equina. (16,18)

Puede concluirse que se han logrado los objetivos propuestos ya que el conocimiento de la composición química de las distintas mezclas de germinado puede explicar la calidad y el valor nutritivo de los mismos, lo cual nos permite confirmar que los germinados estudiados hacen interesante la utilización de estos recursos vegetales en la alimentación equina, pudiéndose formular germinados mixtos de cereal-leguminosa, cereal-girasol, como alimentos muy completos.

Es necesario continuar con esta investigación realizando pruebas in vivo y estudiar la posible disminución de otras patologías digestivas en caballos al ser alimentados con estos germinados. Aunque ya existen estudios que confirman la disminución de la incidencia de cólico, podría resultar interesante estudiar la incidencia de úlceras gástricas puesto que es un problema actual y frecuente en los caballos y que disminuye el rendimiento deportivo. Además, sería conveniente realizar estudio de las heces y un seguimiento coprológico de caballos alimentados con este producto. También por otro lado, se cree que los germinados proporcionan vitamina C que podría ser una buena opción para caballos con un entrenamiento pesado, pero la eficacia de la absorción requiere de más investigación, así como estudiar los niveles de antioxidantes que presentan los germinados y pruebas de digestibilidad reales.

6. CONCLUSIONES

- La utilización de estos germinados resulta interesante en la alimentación equina pudiéndose formular germinados mixtos de cereal-leguminosa, cereal-oleaginosa como alimentos muy completos y saludables.
- Con la suplementación de germinado de cereales se obtiene un mejor resultado de la fracción fibra respecto de los germinados con guisante o girasol, además de una relación con la disminución de la incidencia de cólicos en la dieta para caballos.
- Se obtiene un mayor índice energético además de potenciar diferentes funciones fisiológicas importantes si se utiliza germinado mixto con la presencia de una oleaginosa como el girasol debido a su mayor contenido en grasa y ácidos grasos esenciales.
- La germinación mixta de cereales más la presencia de una leguminosa como el guisante proporciona a la dieta una gran fuente de proteína y de aminoácidos esenciales que podrían promover el crecimiento y mejorar el índice muscular.

6. CONCLUSIONS

- It is interesting the use of these sprouts in equine feeding, being able to formulate mixed sprouts of cereal-legume, cereal-sunflower, as very complete and healthy foods.
- With the supplementation of cereals sprouts, a better result of the fiber fraction is obtained, in addition to a relationship with the decrease in the incidence of colic in the diet for horses.
- There is a higher content of fat and fatty acids when the sprouts are supplemented with the presence of an oilseed such as sunflower, which are essential for different physiological functions as well as supposing a higher energy index.
- Complement the sprouts with a legume such as pea, provide the diet with a great source of proteins and essential amino acids that promote growth and improve the muscle index.

7. BIBLIOGRAFÍA

1. Malalana Fernando. I Curso de Diagnóstico y Tratamiento del Cólico en el Caballo. Universidad Complutense Madrid. Hospital Clínico Veterinario Complutense. Madrid; 2017.
2. W. Martin-Rosset. Alimentación de los caballos. 1th ed. INRA : Barcelona; 1993.
3. Frappe David. Equine Nutrition and feeding. 4th ed. Wiley-Blackwell. UK; 2010.
4. Portillo L, Re M, Murcia J B. Comparación de la incidencia de episodios de cólicos en una población de caballos antes y después de la inclusión de germinados en la dieta. Hospital clínico Veterinario Complutense, Área de Grandes Animales. Universidad Complutense, Facultad de veterinaria, Departamento de Medicina y Cirugía Animal; 2017.
5. Ortiz L T, Rebolé A, Jiménez B, Velasco S. Valoración nutritiva de germinados. IX Congreso CYTA/CESIA. Madrid, España; 2017.
6. Ortiz L T, Rebolé A. Composición en aminoácidos y ácidos grasos de germinados de cebada, guisante y girasol. IX Congreso CYTA/CESIA. Madrid, España; 2017.
7. Vargas Martínez AH. Evaluación productivo-ambiental de dos genotipos de maíz (*Zea mays L.*), en forraje verde hidropónico bajo invernadero. Méjico: Instituto Politécnico Nacional; 2008.
8. Murray J, EquineNutritionCourse. University of Edingburgh; 2013

9. Nonogaki H, Bassel G, Bewley, J D. Germination-still a mystery. *Plant Science*, 2010;179(6):574–581.

10. Ortiz L T, Rebolé A. Manuel de prácticas de Agronomía BPAII [apuntes]. 2º curso Grado en Veterinaria 2017-2018. Universidad Complutense de Madrid, Facultad de Veterinaria, Departamento de Producción Animal. 2017.

11. AOAC (1995) Official Methods of Analysis, 16 edn (Arlington, VA, Association of Official Analytical Chemists International).

12. Arija, I. A. Viveros, A. Brenes y R. Canales. Estudio del valor nutritivo de la semilla de girasol entera descascarillada en raciones de pollos broiler y su efecto sobre la concentración de ácidos grasos en la grasa abdominal. Instituto de Nutrición y Bromatología. CSIC. Ciudad Universitaria. 28040 Madrid. 1999.

13. Lesté-Lasserre Christa. Amino Acid Requirements for Horses. UK. College of Agriculture Food and Environment. Publicado Septiembre 2013. Disponible en: <http://equine.ca.uky.edu/news-story/amino-acid-requirements-horses>.

14. Potter Gary D. Concepts in Protein Digestion and Amino Acid Requirements of Young Horses. *The Professional Animal Scientist*. 2015;18 (4): 295-301.

15. Merlassino Julieta. Nutrición Equina. Cátedra de Nutrición Animal y Manejo de Alimentos de la Universidad Nacional de la Pampa. Publicado Octubre 2011. Disponible en <https://www.scribd.com/document/77266539/NUTRICION-EQUINA>.

16. ker.com [Internet]. Kentucky Equine Research Staff. Equineews. Sprouts for Horses. Publicado 8 Septiembre 2011. Disponible en <https://ker.com/equineews/sprouts-for-horses/>.
17. Ortiz L T, Velasco S, Rodríguez M L, Martín S. Nutritive value of sprouts from legume seeds for animal feeding. Pontevedra, España. 2015.
18. Equinocol.com [Internet]. España: Contrato de investigación Art. 83. Informe final. 14 de Julio de 2015. Disponible en: <https://www.equinocol.com/idi/>.
19. Möller J. Comparing methods for fibre determination in food and feed. *Foss*, 2014;(1):1–6.
20. Chung, T, Nwokolo J S. Compositional and digestibility changes in sprouted barley and canola seeds. *Plant Foods for Human Nutrition*, 1989;39(3):267–278.
21. Barton F E. Chemistry of lignocellulose: Methods of analysis and consequences of structure. *Animal Feed Science and Technology*, 1988;21(2–4):279–286.

8. ANEXO



Imagen 4.1 Se muestran dos de los germinados analizados en este estudio.