

# PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATÓLICA ARGENTINA

# Ingeniería Agronómica

# SOLUBILIDAD EN EL TIEMPO DE DIFERENTES GRANULOMETRÍAS DE PIEDRA CALIZA DE ARGENTINA

# Trabajo final de graduación para optar por el título de: Ingeniera Agrónoma

Autor/a: Florencia María Rostagno

Tutor/a: Dra. María Julieta Olocco Diz

Fecha de defensa:

"Solubilidad en el tiempo de diferentes granulometrías de piedra caliza de Argentina" Florencia M. Rostagno Versión: para corrección

# ÍNDICE

RESUMEN	2
INTRODUCCIÓN	3
MATERIALES Y MÉTODOS	6
RESULTADOS	7
DISCUSIÓN	g
CONCLUSIÓN	11
BIBLIOGRAFÍA	12
ANEXOI	15

Versión: para corrección

### **RESUMEN**

En este trabajo se comparan los valores de solubilidad de 3 granulometrías diferentes de carbonato de calcio, que se utilizan en las dietas de las gallinas ponedoras, provenientes de una cantera en San Juan, Argentina. Se calculó la solubilidad a los 30, 90 y 150 minutos, lo que permite adecuar las formulaciones de las dietas a los requerimientos de las gallinas ponedoras. Para la medición de la solubilidad *in vitro* se utilizó el método de Kim *et al* 2019. Los resultados para la solubilidad del carbonato de calcio a los 30, 90 y 150 minutos para las granulometrías chica (0.8 mm), mediana (1 a 3 mm) y grande (4 mm) fueron los siguientes:  $96 \pm 0.02$ ;  $92.78 \pm 0.01$ ;  $95.23 \pm 0.02$ ;  $69.49 \pm 0.02$ ;  $95.83 \pm 0.01$ ;  $94.32 \pm 0.02$ ;  $44.65 \pm 0.05$ ;  $90.08 \pm 0.04$ ;  $95.07 \pm 0.01$  respectivamente. Hubo efecto de interacción, el efecto de la granulometría cambió con el efecto del tiempo. A los 30 minutos hubo diferencias en la solubilidad, pero a los 90 y 150 las diferencias no fueron significativas.

Palabras clave: piedra caliza, solubilidad, granulometría, carbonato de calcio.

Versión: para corrección

### INTRODUCCIÓN

El calcio es uno de los elementos más abundantes en el cuerpo y, a menudo, es el principal catión de la dieta. El noventa y nueve por ciento del calcio del cuerpo se encuentra en el esqueleto, mientras que el 1% restante es extremadamente importante en el metabolismo celular, la coagulación sanguínea, la activación de enzimas y la acción neuromuscular (Soares, 1995). El calcio es considerado un macromineral, que junto con el fósforo son los elementos minerales más abundantes en el cuerpo y son necesarios en la dieta de aves en concentraciones de más de 100 mg/kg, para la formación y el mantenimiento de la estructura del esqueleto y para la buena calidad de la cáscara del huevo (Ravindran, 2012).

En la dieta de gallinas ponedoras, la suplementación de calcio es muy importante ya que no solo es necesario para la estructura ósea de la misma, sino también para la formación de la cáscara del huevo, la cual debe cumplir con cierto estándar de calidad en su comercialización. La meta usual en la alimentación de las gallinas ponedoras es obtener la máxima producción de huevos de tamaño grande y buena calidad interna y externa con una fórmula alimentaria de poco costo (Church *et al*, 1994).

El calcio es el elemento más importante y abundante de la cáscara del huevo de gallina. Diversos trabajos han demostrado que las gallinas son más eficientes utilizando el calcio procedente del alimento para la formación de la cáscara que el calcio procedente del hueso (Lera, 2013). Una vez iniciada la puesta, las necesidades nutricionales de las ponedoras cambian radicalmente: va a continuar el crecimiento del animal, aunque de forma más lenta, y van a aumentar de forma rápida las necesidades para producción de huevos (Carrizo, 2005).

El 98% de la cáscara del huevo está compuesta por carbonato de calcio, que es movilizado de la médula ósea, por lo que, en los primeros días de postura de una gallina si la dieta es baja en calcio, ella podría perder hasta un 40% del calcio en su esqueleto luego de poner 6 huevos. La formación de un huevo supone un gran esfuerzo fisiológico por parte de la gallina que es capaz de depositar alrededor de 7,7 gramos de proteína, 7 gramos de lípidos, 2 gramos de Ca y 40 gramos de agua, entre otros, casi cada día. (De Cristofaro, 2017).

Un huevo grande común contiene más o menos 2 g de Ca, la mayor parte del cual se encuentra en el cascarón (Roland, 1986). Si una ponedora forma un huevo cada día, necesita 2 g de Ca para la formación del huevo, además de una pequeña cantidad de Ca para el mantenimiento del peso corporal. La necesidad se basa en una supuesta digestibilidad de 45% de Ca. (Church *et al*, 1994).

Los suplementos de calcio habitualmente utilizados en la alimentación de las aves de corral son la piedra caliza, las conchas marinas trituradas o la harina de conchas marinas. Se puede incluir piedra caliza en polvo a un nivel no superior al tres por

Versión: para corrección

ciento, ya que unos niveles más altos reducirían el consumo de alimentos. Por ello es preciso proporcionar a las ponedoras de alta producción el calcio adicional necesario como conchas en polvo o piedra caliza en polvo (Ravindran, 2012).

La piedra caliza está caracterizada por su composición mayoritaria de carbonato de calcio (CaCO<sub>3</sub>) el cual, dentro de sus tantos usos, lo podemos utilizar como suplemento de calcio en la alimentación animal.

Se puede obtener el carbonato de calcio a través de la explotación de las canteras de piedra caliza. Las principales explotaciones de calizas de Argentina son las de San Juan, Buenos Aires y Córdoba (Alonso, 2015). Las explotaciones se realizan en canteras a cielo abierto y, dependiendo de las características del yacimiento y del fin al que se destine la producción, variando desde una explotación integral mecanizada hasta la pequeña en donde se practica la selección manual. Se extraen dos tipos principales de productos de las canteras: mármol y piedra para calcinar o triturar (Dirección de minería, s.f.). A través del proceso de calcinación se obtiene la cal viva, y ésta puede convertirse en cal hidratada al someterla a un proceso de hidratación. Las piedras calizas pueden variar en sus porcentajes de pureza o impurezas de acuerdo a la presencia de otros minerales. Las de máxima pureza son las utilizadas en los alimentos balanceados, en aplicaciones farmacéuticas y en otra gran variedad de usos.

La medida de la solubilidad del carbonato en ácido clorhídrico nos da una aproximación a su disponibilidad para las aves. La solubilidad va a depender fundamentalmente de dos factores: la roca de origen del carbonato y su granulometría. (Carrizo, 2005)

El tamaño de partícula de las fuentes de Ca puede influir en su disponibilidad para las gallinas. Como la cáscara del huevo suele formarse durante la noche, cuando las gallinas no comen, la ventaja del uso de partículas más grandes es su paso más lento por el tracto gastrointestinal. Esto hace que el Ca esté disponible para la formación de la cáscara del huevo, con la consiguiente menor movilización del Ca óseo por parte de la gallina (Harms, 1982). Las partículas de un tamaño inferior a 1,5 – 2 mm no quedan retenidas en la molleja, y aparecen en porcentaje elevado en las heces. Sin embargo, las partículas con un tamaño comprendido entre 2 mm y 4,5 mm son fácilmente almacenadas en la molleja, donde se irán disolviendo progresivamente para garantizar el aporte de Ca preciso durante la calcificación, hasta el final de la noche (Lera, 2013).

Versión: para corrección

## **HIPÓTESIS**

La solubilidad en el tiempo de la piedra caliza es diferente según su granulometría.

### **OBJETIVOS**

- Principal: conocer y comparar la solubilidad de la piedra caliza de Argentina, de distintas granulometrías.
- . Específicos:
  - Medir la solubilidad de las diferentes granulometrías en 3 tiempos (30 minutos, 90 minutos y 150 minutos)
  - Comparar con otras fuentes de calcio, los mismos procedimientos de medición de solubilidad.

Versión: para corrección

# **MATERIALES Y MÉTODOS**

Siguiendo el método de Kim *et al* 2019, se realizó la medición de la solubilidad a tres tiempos: 30, 90 y 150 minutos con piedra caliza en la presentación de tres granulometrías diferentes.

- Muestras 1 (chica): Malla de 0.8 mm (menores a 0.8 mm)
- Muestras 2 (mediana): Entre dos mallas, 1 y 3 mm (mayor a 1 y menor a 3)
- Muestras 3 (grande): Malla de 4 mm

El ensayo se llevó a cabo en el laboratorio de química de la Facultad de Ingeniería y Ciencias Agrarias de la UCA (Pontificia Universidad Católica Argentina), y en el Laboratorio de Evaluación de Alimentos para Animales (LEAA) de la misma facultad.

La piedra caliza (CaCO3) testeada fue proveniente de una fuente de la Cantera La Candelaria en la Provincia de San Juan, Argentina. La cantera contiene piedra cálcica y el proceso de molienda y zarandeo se realiza sobre la roca seca (ya que en caso de precipitaciones la misma se cubre para evitar su hidratación).

Para el baño de agua oscilante con control de temperatura, se utilizó un Lavador ultrasónico TestLab (origen Argentina), de potencia ultrasónica 400, una frecuencia de 40 Khz, potencia de calefactor de 200 W y temperatura regulable. Se utilizó un termómetro digital, un cronómetro digital marca Samsung, y una balanza de precisión Mettler Toledo Ag 204 (origen Suiza) para 2 g (0.01 g) y 400 g (0.001). Se utilizaron agitadores magnéticos FBR Desalab (origen Argentina) y dos buzos grandes. Se utilizó un pHimetro de mano "Adwa" AD110 (origen Suizo), portable meter pH/temperatura con electrodo y sonda de temperatura, con calibración de 2 puntos hecho en CE. Se calibró con soluciones estándar de pH 4 Y 7, y se midió la solución de pH 2. Para el sistema de filtrado se utilizó una tubería de vacío, un matraz y Filtro Whatman N°40, 70 mm de diámetro. Se utilizaron cazuelitas de aluminio para pesar de 11 cm de diámetro, glicina (VWR Life Science, Cat #:97061-132 Purity >=99%), ácido clorhídrico puro (12.1 N: 37.15% v/v: gravity 1.19 densidad), agua destilada y de-ionizada. Para secar las muestras se utilizó una estufa de aire forzado SanJor, industria argentina, y un desecador con gel de sílice.

En el LEAA (Laboratorio de Evaluación de Alimentos para Animales), se utilizó la balanza para tarar las cazuelas de aluminio, los papeles de filtro y pesar las muestras (se necesitó 1,00 gr de caliza para cada ensayo). En cada día de trabajo se realizaron 10 muestras: 3 para cada ensayo y uno más como blanco.

En el Laboratorio de Química, se colocaron 138 ml de HCl en cada frasco de Erlenmeyer de 250 ml (10 en total), bajo campana, y se los tapó. Una vez que el baño de agua oscilante estuvo listo a 42°C, se agregó la primera muestra de un gramo de caliza a un Erlenmeyer, se lo tapó y colocó en el oscilador. Se registró la hora, temperatura y se empezó a cronometrar. Cada 5 minutos se fue repitiendo la

Versión: para corrección

acción, agregando un nuevo frasco. Se comenzó por los ensayos 1, 2, 3 y el blanco para los 150 minutos, luego el 4, 5 y 6 para 30 minutos, y por último el 7, 8 y 9 para 90 minutos.

A medida que se cumplía el tiempo, se fueron retirando los frascos y se procedió a tomar la temperatura del agua del oscilador, el pH de la solución e inmediatamente se agregaron los 100 ml de agua doble destilada fría para cortar la reacción. Luego, se utilizó el sistema de filtrado para que todos los sólidos queden dentro del papel de filtro. Así se hizo con todas las muestras, y se depositaron los líquidos en un bidón de desechos químicos.

Por último, las cazuelas de aluminio con el papel de filtro y los sólidos fueron a la estufa de aire forzado SanJor, donde se secaron a 100°C por 8 horas como mínimo para luego determinar materia seca. Luego se pesaron los papeles de filtro junto a las cazuelas y se registraron los datos finales. Para la obtención de los valores de digestibilidad se calculó la solubilidad (%) de la piedra caliza con la siguiente fórmula:

$$\frac{((WDs - (Wfp * \frac{DMfp}{100}) - (Wp * \frac{DMp}{100}))}{(Ws * \frac{DMs}{100})}$$

Cálculo	Descripción	Unidad
Ws	Peso de la muestra	gr
DMs	Materia seca de la muestra	gr
WDs	Peso de la MS después de la solubilidad	gr
Wfp	Peso del papel filtro	gr
DMfp	Materia seca del papel filtro	gr
Wp	Peso de la cazuela de aluminio pre rotulada antes de ser secada	gr
DMp	MS de la cazuela de aluminio (peso de la cazuela de aluminio antes	gr
	y después de ser secada)	_

Los resultados de la solubilidad *in vitro* fueron analizados mediante análisis de la varianza en un diseño completamente aleatorizado siguiendo un modelo lineal generalizado. Se realizó un ANOVA de dos factores: por un lado, el factor granulometría (chica, mediana, grande) y por el otro lado, el factor tiempo (30, 90 y 150 minutos) con 3 repeticiones cada tratamiento. Todos los análisis estadísticos fueron efectuados utilizando el programa estadístico Infostat. (FCA Universidad Nacional de Córdoba).

#### **RESULTADOS**

En la tabla siguiente se muestran los valores promedio de solubilidad de las diferentes granulometrías para cada tiempo, con su desvío estándar correspondiente. Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0.05).

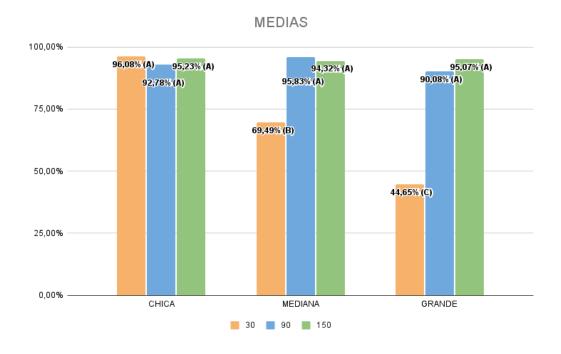
Versión: para corrección

Granulometría (Tamaño partícula)	Tiempo (Minutos)	Solubilidad promedio	Desvío Estándar
Chica	30	96,08% (A)	0,02
	90	92,78% (A)	0,01
	150	95,23% (A)	0,02
Mediana	30	69,49% (B)	0,02
	90	95,83% (A)	0,01
	150	94,32% (A)	0,02
	30	44,65% (C)	0,05
Grande	90	90,08% (A)	0,04
	150	95,07% (A)	0,01

Tabla 1 - Resultados de solubilidad y sus desvíos.

Los valores de solubilidad obtenidos de la experimentación se encuentran en las tablas adjuntas en el ANEXO I.

El análisis de la varianza (Valor p < 0,05) indicó que existe interacción significativa entre los factores granulometría y tiempo. A los 30 minutos, la solubilidad fue menor en cuanto el tamaño de la partícula era mayor. A partir de los 90 minutos, ya no hay diferencias significativas, por lo que no habría efecto del tratamiento sobre la



Versión: para corrección

solubilidad.

Gráfico 1- Medias de solubilidad según granulometría y tiempo

## DISCUSIÓN

Nuestros hallazgos son consistentes con varios estudios previos que investigaron la solubilidad del carbonato de calcio en diferentes contextos. Por ejemplo, Hervo *et al.* (2022) encontraron que tanto la solubilidad *in vitro* como la *in vivo* de la piedra caliza variaba significativamente según el tamaño de partícula. Buendia Molina *et al.* (2019) indicaron que el tamaño de partícula, la porosidad de la fuente de calcio y el tiempo de exposición al ácido influyen en la solubilidad del calcio. Además, Cheng y Coon (1990) encontraron diferencias en la solubilidad del carbonato de calcio entre diferentes procedimientos de medición, lo que resalta la importancia de utilizar métodos estandarizados, ya que cada uno puede registrar respuestas distintas y provocar variaciones en los resultados obtenidos.

Carrizo (2005) enfatiza que no sólo el nivel del calcio es importante, sino su forma de presentación. El carbonato finamente molido presenta una gran superficie para su ataque en el aparato digestivo, lo que favorece su rápida absorción. La utilización de carbonatos groseramente molidos con partículas de 3 a 5 mm de diámetro permitirá que este permanezca en la molleja y aporte calcio de forma continua, aunque el animal no disponga de pienso en el intestino. A través del empleo suplementario de carbonato cálcico grueso, que se retienen durante más tiempo en la molleja, reducen la solubilidad del calcio y ayudan a alargar la absorción del mismo en el período nocturno (Chang, & Note, 2020). A medida que aumenta la granulometría, disminuye la solubilidad debido a una menor superficie de exposición al ácido clorhídrico, tal como observamos en nuestro ensayo al comparar la solubilidad de las tres granulometrías a los 30 minutos.

Estos resultados coinciden con los hallazgos de Pelicia *et al.* (2011) sobre la solubilidad *in vitro* de diferentes tamaños de partículas de piedra caliza. Cuando el tamaño de partícula de la piedra caliza aumentó desde 0.18 mm (fino) hasta 3.90 mm (grueso), la solubilidad *in vitro* se redujo del 25.56% al 22.37%.

Los resultados obtenidos a los 30 minutos de nuestro ensayo indican que la solubilidad está relacionada con el tamaño de partícula. Observamos que, a los 30 minutos la granulometría tuvo un efecto significativo en la solubilidad, que disminuyó del 96% para partículas menores a 0,8 mm, al 69% para tamaños entre 1 y 3 mm, y al 45% para partículas mayores a 4 mm. Sin embargo, notamos que después de los 90 minutos, la influencia de la granulometría en la solubilidad parece mitigarse. Adicionalmente, es importante considerar la fuente de calcio, ya que la piedra caliza

Versión: para corrección

varía en solubilidad y, por lo tanto, en su disponibilidad para las aves según su origen (Hy-Line, 2017).

Las partículas de calcio analizadas en este ensayo y el de Podestá (2021) provienen de la misma cantera de piedra caliza. Pero al comparar nuestros resultados respecto a la misma partícula mediana, se observa que el porcentaje de solubilidad es muy similar: el promedio de este ensayo fue del 87%, mientras que el suyo alcanzó el 89%. Ambos estudios utilizaron la misma granulometría, método, tiempos y piedra caliza. Sin embargo, al analizar más a fondo, notamos que a los 30 minutos la solubilidad de este ensayo fue del 69%, mientras que la de Podestá fue del 84%, lo que sugiere la influencia de algún factor adicional. Según un estudio realizado por Niu et al. (2022), la solubilidad del carbonato de calcio está influenciada por la temperatura y el pH, por lo que sería necesario investigar más estos factores para determinar la razón de la diferencia.

Fassani et al (2004), informan que hubo una interacción significativa (P<0.01) entre los carbonatos de calcio y las granulometrías en la solubilidad *in vitro*, y todos los carbonatos presentaron una reducción en la solubilidad con el aumento de la granulometría (P<0.01), aunque mostraron un comportamiento cúbico. Esto indica que, aunque el aumento de la granulometría es el principal factor que afecta la solubilidad *in vitro*, no es el único. Hubo diferencias en la solubilidad *in vitro* entre carbonatos de la misma granulometría, lo que sugiere que la composición mineral y las características físicas también juegan un papel, en línea con las observaciones planteadas por Roland y Bryant (1999) y Melo et al. (2006).

Los resultados de este ensayo de solubilidad de la piedra caliza pueden compararse con otras fuentes de calcio comúnmente utilizadas, como la conchilla y la cáscara de huevo. Según Buendia Molina *et al.* (2019), las características fisicoquímicas de la fuente de calcio influyen en la solubilidad, ya que en su estudio se observaron diferencias significativas entre la conchilla y el carbonato de calcio. Sin embargo, en el trabajo realizado por Podestá (2021), no se encontraron grandes diferencias de la solubilidad *in vitro* entre la conchilla y la piedra caliza. En cambio, sí se evidenciaron diferencias al comparar con la cáscara de huevo, la cual tuvo menor solubilidad que las otras fuentes y cuando el tiempo fue mayor se observó un incremento en la solubilidad (Lichovnikova, 2007 y Podestá, 2021).

Si bien Buendia Molina *et al.* (2019) utilizaron un método diferente (técnica de porcentaje de pérdida de peso WLM), los resultados muestran un comportamiento similar en la relación entre el tamaño de partícula y la solubilidad. En este ensayo, se encontró que la solubilidad de la piedra caliza sigue el mismo patrón descrito por Buendia Molina (2019): a mayor tamaño de partícula, menor es la solubilidad. En el caso de la piedra caliza, la solubilidad a 30 minutos fue del 96% para partículas menores a 0.8 mm, mientras que para partículas mayores a 4 mm fue del 45%.

Versión: para corrección

Buendia Molina (2019) reportó solubilidades del 83.16% para la harina de carbonato de calcio y del 54.16% para partículas de carbonato de calcio de 4 mm.

Cuando comparamos estos resultados con la solubilidad de la conchilla, observamos que ambas fuentes de calcio tienen un comportamiento similar en cuanto a la rápida solubilidad inicial. Según Podestá (2021), la conchilla mostró solubilidades del 95% a los 30 minutos y del 96.26% a los 150 minutos, cifras comparables con la piedra caliza que alcanzó el 83.66% a los 30 minutos y el 92.05% a los 150 minutos. A su vez, Vicentin (2022), coincide que los valores obtenidos de solubilidad para distintas granulometrías de conchilla y a distintos tiempos son mayores al 90% en todos los casos sin diferencias significativas. Esto refuerza la idea de que tanto la conchilla como la piedra caliza son fuentes de calcio similares para la formulación de dietas debido a su alta solubilidad.

Diversas experiencias demuestran que los mejores resultados en términos de calidad de la cáscara parecen obtenerse cuando el aporte de calcio alimentario se hace con alrededor del 70 % en partículas de tamaño grueso -2 a 4,5 mm- y el 30 % restante en forma pulverulenta, en el caso de las ponedoras marrones, y 50 % de cada tipo en el caso de las blancas (Lera, 2013). Según este ensayo, esto sería válido para solubilidades a los 30 minutos, sin considerar otros efectos como el tiempo de retención en la molleja. Desafortunadamente, no existen datos detallados para mostrar la mejor relación de tamaño de las partículas de piedra caliza de grano fino. La mayoría de los investigadores utilizan aproximadamente 2/3 partes de carbonato de Ca como partículas grandes y 1/3 como partículas finas (De Cristofaro, 2017).

El uso de partículas más grandes y menos solubles crea un suministro de Ca durante las horas de oscuridad, que es cuando el ave lo necesita más para la formación de la cáscara. En vez de aumentar los niveles del pienso en Ca, el suministro diario de granulometría gruesa puede ser más eficaz (Kleyn, 2019). Los resultados apoyan el concepto de que un tamaño de partícula mayor o una menor solubilidad *in vitro* pueden aumentar la retención de Ca en las gallinas ponedoras (Zhang & Coon,1997).

# **CONCLUSIÓN**

Este trabajo permitió medir la solubilidad *in vitro* de diferentes tamaños de partícula de una fuente de piedra caliza local y compararla con distintos trabajos de solubilidad de calcio. Al igual que otras fuentes de calcio, cuanto más grande es la partícula tiene una menor solubilidad inicial. A su vez, a mayor tiempo de permanencia del calcio en el ácido aumenta la solubilidad de este, lo que se traduciría en mayor liberación del calcio en el tubo digestivo de las gallinas ponedoras.

Versión: para corrección

En resumen, nuestros resultados respaldan la hipótesis de que la solubilidad del carbonato de calcio varía según la granulometría y el tiempo. Estos hallazgos tienen importantes implicaciones para la formulación de dietas de gallinas ponedoras, ya que sugieren la necesidad de considerar cuidadosamente la granulometría y el tiempo de disolución al seleccionar fuentes de calcio para optimizar la salud y la producción de huevos de las aves.

## **BIBLIOGRAFÍA**

Alonso R. (2015, 9 de noviembre). Calcita, Calcio y Calizas. El Tribuno. Recuperado el 5 de agosto de 2023, de: <a href="https://www.eltribuno.com/salta/nota/2015-11-9-0-30-0-calcita-calcio-y-calizas">https://www.eltribuno.com/salta/nota/2015-11-9-0-30-0-calcita-calcio-y-calizas</a>.

Buendía Molina, M.; Adama Rojas, E.; Vergara Rubín, V. (2019). La solubilidad in vitro del calcio: ¿Una gran importancia para la crianza de aves? Revista Cátedra Villarreal. 2, (7).

Cal: Tipos de cales (2023). Recuperado el 5 de agosto de 2023, de https://www.calerassanjuan.com/tiposdecales.html

Carrizo M., J. (2005). Alimentación de la pollita y la ponedora comercial: Programas prácticos. En Jornadas Profesionales de Avicultura de Puesta (pp. 625-634). Valladolid, España.

Chang, A. & Note, R. (2020). Importancia de la nutrición en la calidad de la cáscara de huevo en los reproductores pesados. Recuperado el 14 de julio de 2024, de: Avicultura.com <a href="https://avicultura.com/importancia-de-la-nutricion-en-la-calidad-de-la-cascara-de-huevo-en-los-reproductores-pesados/">https://avicultura.com/importancia-de-la-nutricion-en-la-calidad-de-la-cascara-de-huevo-en-los-reproductores-pesados/</a>

Cheng T. K. & Coon C. N. (1990). Comparison of Various *In Vitro* Methods for the determination of Limestone Solubility. Poultry Science 69:2204-2208

Church, D. C., Pond, W. G., & Pond, K. R. (1994). Fundamentos de nutrición y alimentación de animales.

De Cristofaro, A. M. (2017). Importancia del calcio y fósforo en la formación de la cáscara de huevo en gallinas ponedoras. [Tesina de maestría no publicada] Universidad Nacional de la Plata, Buenos Aires, Argentina.

Dirección de Geología, Secretaría de Minería (s.f.). Rocas Carbonáticas. Recuperado el 05 de noviembre de 2024, de: https://www.argentina.gob.ar/sites/default/files/triptico\_carbonatos\_0.pdf

Versión: para corrección

Fassani EJ, Bertechini AG, Kato RK, Fialho ET, Geraldo A (2004). Composição e solubilidade in vitro de calcarios calcíticos de minas gerais. Ciênc. Agrotec. 2004; 28(4):913-918.

Hy-Line Brown. (2017) La ciencia de la calidad del huevo. Boletín Técnico. Recuperado el 05 de noviembre de 2024 de: https://www.hyline.com/Upload/Resources/TU%20EQ%20SPN.pdf

Kim, S. W.; Li, W.; Angel, R.; Plumstead, P. W. (2019). Modification of a limestone solubility method and potential to correlate with in vivo limestone calcium digestibility. Poultry Science. 12 (98): 6837-6848.

Kleyn, R. (2019). Nutrición de las ponedoras: Visión futura. In Proceedings of the Australian Poultry Science Symposium. Sydney, Australia.

Lera, R. (2013). Alimentación cálcica para calidad de la cáscara en las ponedoras. En Jornadas Profesionales de Avicultura (pp. 28-31). León, España.

Lichovnikova, M. (2007) The effect of dietary calcium source, concentration, and particle size on calcium retention, eggshell quality, and overall calcium requirement in laying hens. British Poultry Science. 1(48):71–75.

Melo, T. V., Mendonça, P. P., Moura, A. M., Lombardi, C. T., Ferreira, R. A., & Nery, V. L. (2006). Solubilidad in vitro de algunas fuentes de calcio utilizadas en alimentación animal. Archivos de Zootecnia, 55(211), 297-300.

Niu, Y.-Q., Liu, J.-H., Aymonier, C., Fermani, S., Kralj, D., Falini, G., & Zhou, C.-H. (2022). Calcium carbonate: controlled synthesis, surface functionalization, and nanostructured materials. Chemical Society Reviews, 51(15), 7883-7943.

Pelicia, K.; Mourao, J. L. M.; Garcia, E. A.; Pinheiro, V. M. C.; Berto, D. A.; Molino, A. B.; Faitarone, A. B. G.; Vercese, F.; Santos, G. C.; Silva, A.P. (2011). Effects of Dietary Calcium Levels and Limestone Particicle Size on The Performance, Tibia and Blood of Laying Hens. Brazilian Journal of Poultry Science, (13), 29-34.

Podestá, F. E. (2021). Solubilidad de las distintas fuentes de calcio en aves [Trabajo final de graduación, Ingeniero Agrónomo]. Universidad Católica Argentina.

Ravindran, V. (2012). Disponibilidad de piensos y nutrición de aves de corral en países en desarrollo. Revisión del Desarrollo Avícola, 61-84.

Roland D. A., (1986). Eggshell Quality: Oystershell versus limestone and the importance of particle size or solubility of calcium source. World Poult. Sci. 42: 166-171.

Versión: para corrección

Roland D. A. & Bryant M. (1999). Optimal shell quality possible without oyster shell. Feedstuffs, v. 71, n. 15, p. 18-19.

Soares, J. H. Jr. (1995). Calcium Bioavailability. In C. Ammerman, D. Baker, & A. Lewis, Bioavailability of nutrients for animals: amino acids, minerals and vitamins. (pp. 95-118).

Vicentin, J. M. (2022). Incidencia de la granulometría en la solubilidad de la conchilla Argentina. [Trabajo final de graduación, Ingeniero Agrónomo]. Universidad Católica Argentina.

Zhang, B., & Coon, C. N. (1997). The relationship of calcium intake, source, size, solubility *in vitro* and *in vivo*, and gizzard limestone retention in laying hens. Poultry Science, 76(12), 1702–1706.

Versión: para corrección

#### **ANEXO I**

### Parte estadística:

- Diseño completamente aleatorizado, ANOVA de 2 factores → Modelo lineal general
  - 1 columna = S (27 datos); 2 columna = granulometría (chica, mediana, grande); 3 columna = tiempo (30, 90, 150)
  - Variable Respuesta = Solubilidad (%) entre 0 y 100 en función de 2 factores (Granulometría y tiempo)
  - Queremos ver si hay interacción entre los 2 factores → el efecto de la granulometría cambia con el tiempo
  - Hipótesis nula (el modelo planteado no es válido) → no hay efecto del tratamiento sobre la VR
    - $H_{o1}$  → efecto granulometría = 0
    - $H_{o2}$  → efecto tiempo = 0
    - H<sub>o3</sub> → efecto granulometría x tiempo = 0
  - Hipótesis alternativa (el modelo planteado es válido) → si existe efecto del tratamiento sobre la VR. Al menos 1 diferente de 0
    - $\blacksquare$   $\bowtie_G \neq 0$

    - $\blacksquare$   $\bowtie_{GxT} \neq 0$
  - Heterocedasticidad → ANOVA → Prueba de Levene (RABS; VI)
    - Miro valor p
    - No hay datos atípicos

### Pruebas de hipótesis tipo III - prueba

	Source	numDF	denDF	F-value	p-value
1	G	2	18	112.44	< 0.0001
2	T	2	18	246.90	< 0.0001
3	G:T	4	18	108.66	< 0.0001

- → Valor p < 0,05 entonces rechaza hipótesis nula y se concluye que al menos un promedio difiere del resto (existen diferencias significativas).
- → Hay diferencia significativa entre las granulometrías a los 30 minutos. A partir de los 90 ya no hay diferencias significativas, por lo que no habría efecto del tratamiento sobre la solubilidad.

S - Medias ajustadas y errores estándares para G\*T DGC (Alfa=0.05)

Procedimiento de corrección de p-valores: No

G T Medias E.E.

Versión: para corrección

Chica	30	0.96	0.01	Α		
Mediana	90	0.96	0.01	Α		
Chica	150	0.95	0.01	Α		
Grande	150	0.95	0.02	Α		
Mediana	150	0.94	0.01	Α		
Chica	90	0.93	0.01	Α		
Grande	90	0.90	0.02	Α		
Mediana	30	0.69	0.01		В	
Grande	30	0.45	0.02			C

<sup>\*</sup>Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0.05)