

**UNIVERSIDAD AUTONOMA AGRARIA
ANTONIO NARRO**

DIVISIÓN DE CIENCIA ANIMAL



**Evaluación de la degradación *in vitro* de subproductos de cervecería (masilla
y levadura)**

POR:

CÉSAR OMAR OCAMPO MORALES

TESIS

**Presentada como Requisito Parcial para
Obtener el Título de:**

INGENIERO AGRONOMO ZOOTECNISTA

Buenavista, Saltillo, Coahuila, México

Abril 2012

Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro

División de Ciencia Animal
Departamento de Producción Animal

Evaluación de la degradación *in vitro* de subproductos de cervecería (masilla y levadura)

Por:

César Omar Ocampo Morales

TESIS

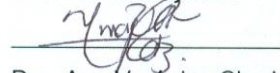
Que se somete a la consideración del H. Jurado Examinador como requisito

Parcial para obtener el título de:

INGENIERO AGRONOMO ZOOTECNISTA

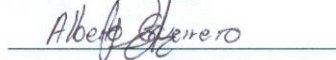
APROBADA

Presidente del jurado



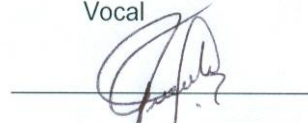
Dra. Ana Verónica Charles Rodríguez

Vocal



M.C. Alberto Guerrero Rodríguez

Vocal



Dr. Jesús Fuentes Rodríguez

Vocal



Dr. Roberto García Elizondo

Dr. Ramiro López Trujillo

Coordinador División de Ciencia Animal
Buenavista, Saltillo, Coahuila, México.

Abril, 2012



El presente trabajo de investigación ha sido desarrollado en el marco de las actividades comprometidas del proyecto “Formulación, elaboración , caracterización y evaluación de un alimento para ganado ovino empleando subproductos de la industria cervecera” con clave 02-03-0404-2292.

El proyecto fue financiado por la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, bajo la convocatoria de proyectos especiales de investigación.

Los colaboradores de esta investigación son:

Dra. Ana Verónica Charles Rodríguez

M.C Alberto Guerrero Rodríguez

Dra. Diana Jasso Cantú

Dr. Jesús Manuel Fuentes Rodríguez

Dedicatoria

A Dios por darme la vida, y estar siempre a mi lado en lo bueno y malo, para conseguir mi superación tanto profesional como personal.

A mis padres César Armando Ocampo Cabrera y Dora Alicia Morales Mora (†) que me dieron la oportunidad de estudiar lo que yo quería, por siempre estar pendiente de mí y darme su apoyo en las decisiones que e tomado en mi vida ya que ellas me han llevado a ser la persona que soy porque buenas o malas e aprendido de ellas.

A mis abuelos: Omar Morales Machuca (†), Ana María Mora y Daniel Ocampo Saury (†), María Elena Cabrera (†) ya que siempre estuvieron al pendiente de mi y han sido una inspiración en mi vida

A mis hermanos por su apoyo su consejo cada vez que lo necesito su amistad y estar siempre al pendiente de mi

A mis amigos por su gran amistad y apoyo tanto en lo personal como en lo académico ya que son como hermanos para mí.

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro por poder desarrollar la carrera que yo quería estudiar y por tener maestros de gran nivel que me dieron las llaves para mi futuro.

A la Dra. Ana Verónica Charles por su guía, orientación durante el desarrollo de este trabajo y presionarme para sacar lo mejor de mí y darme el tiempo y atención suficiente para las dudas que tuve durante este proceso.

Al M.C. Alberto Guerrero que me ayudo con el desarrollo de esta tesis dándome consejos sobre los detalles que le faltaban o no entraban en su sitio.

Al Dr. Jesús Fuentes por su tiempo para el desarrollo de esta tesis.

Al Dr. Roberto García Elizondo por sus comentarios en esta tesis.

A mis maestros en general por poner a disposición sus conocimientos durante toda mi carrera para desarrollarme como profesionista.

A mi familia por su apoyo incondicional y preocupación durante estos 4 años y medio que estuve fuera desarrollándome como profesionista.

INDICE

I. INTRODUCCION.....	1
Antecedentes.....	1
Justificación.....	1
Hipótesis.....	3
Objetivo general.....	3
Objetivos específicos.....	3
II. REVISION DE LITERATURA.....	4
Subproductos de cervecería.....	5
Levadura.....	5
Masilla.....	7
Fermentación ruminal.....	7
Factores que afectan la fermentación ruminal.....	8
Microorganismos ruminales.....	10
Digestibilidad.....	12
Métodos de digestibilidad in vitro.....	14
Digestor DAISY.....	17
III. MATERIALES Y METODOS.....	18
Materia prima.....	18
Caracterización FQ de la materia prima.....	19
FTIR.....	19
Proteína.....	19
Grasa.....	21
Fibra.....	22
Materia seca.....	23
Pruebas de digestibilidad in vitro (digestor Daisy).....	23
Determinación de tasa de flujo ruminal	25
Tratamientos.....	26
IV. RESULTADOS Y DISCUSION.....	27
V. CONCLUSIONES.....	39
VI. LITERATURA CITADA.....	40

INDICE DE CUADROS

Cuadro		Pagina
2.1	Tipo de microorganismos presentes en el rumen.....	11
3.1	Tratamientos de masilla y levadura.....	26
4.1	Promedios porcentuales de los tratamientos en base al análisis bromatológico.....	28
4.2.	Promedios de la DIV (digestibilidad in vitro de la materia seca) para diferentes combinaciones de masilla y levadura.....	28
4.3	Valores máximos alcanzados de DIVMS para cada combinación de los subproductos y tiempo requerido para alcanzar los mayores niveles de degradación.....	34
4.4	Degradación <i>in vitro</i> de la materia seca ajustados a diferentes tasas de flujo ruminal para cada combinación de masilla y levadura.....	35

INDICE DE FIGURAS

Figura		Pagina
4.1	Análisis FTIR.....	27
4.2	Digestibilidad de los tratamientos con combinaciones de masilla y levadura.	29
4.3	Regresión y ajuste de datos de DIVMS para muestras de alimento con 100 % de levadura y 0 % de masilla.....	31
4.4	Regresión y ajuste de datos de DIVMS para muestras de alimento con 25 % de levadura y 75 % de masilla.....	32
4.5	Regresión y ajuste de datos de DIVMS para muestras de alimento con 50 % de levadura y 50 % de masilla.....	32
4.6	Regresión y ajuste de datos de DIVMS para muestras de alimento con 25 % de levadura y 75 % de masilla.....	33
4.7	Regresión y ajuste de datos de DIVMS para muestras de alimento con 0 % de levadura y 100 % de masilla.....	33

Resumen

Los subproductos de cervecería son propicios para la elaboración de productos destinados a la alimentación animal; sin embargo, a pesar que existe alta disponibilidad de estos subproductos (masilla y levadura), en la actualidad no se están aprovechando de manera apropiada, desechándose gran parte en contenedores especiales para no contaminar el ambiente, representando lo anterior un problema para las cerveceras ya que tienen que pagar a empresas especializadas en el tratamiento de desechos biológicos.

El objetivo del presente trabajo fue conocer el tiempo y el pico de degradación de subproductos de la industria cervecera (masilla y levadura) ya sea solos y en combinaciones. Para la evaluación físico-química de los subproductos se realizó el análisis bromatológico y pruebas de FTIR. Se diseñaron 5 tratamientos en diferentes proporciones de masilla y levadura de los cuales se llevaron a cabo pruebas de digestibilidad *in vitro* mediante el uso del digestor Daysi.

El tratamiento con mayor digestibilidad fue el de 25 L: 75 M si solo se va a usar la combinación en la alimentación dado que este tiene una mayor digestibilidad en el periodo de 12 a 24 horas que es lo que dura el alimento en el rumen, pero se pueden combinar ingredientes que disminuyan la velocidad de paso ruminal, haciendo que los otros tratamiento logren alcanzar su pico de degradación en tal caso el tratamiento 75L: 25M seria óptimo ya que este muestra uno de los mayores % de DIVMS y tiene uno de los menores tiempos para llegar al pico de DIVMS.


Palabras claves: digestibilidad, masilla, levadura, velocidad de paso.

MANIFIESTO DE HONESTIDAD ACADÉMICA

El suscrito, César Omar Ocampo Morales, estudiante de la carrera de Ingeniero Agrónomo Zootecnista, con matrícula 283861 y autor de la presente Tesis manifiesto que:

1. Reconozco que el Plagio académico constituye un delito que está penado en nuestro País.
2. Las ideas, opiniones, datos e información publicadas por otros autores y utilizadas en la presente Tesis han sido debidamente citadas reconociendo la autoría de la fuente original.
3. Toda la información consultada ha sido analizada e interpretada por el suscrito y redactada según su criterio y apreciación, de tal manera que no se ha incurrido en el "copiado y pegado" de dicha información.
4. Reconozco la responsabilidad sobre los derechos de autor de los materiales bibliográficos consultados por cualquier vía y manifiesto no haber hecho mal uso de ninguno de ellos.
5. Entiendo que la función y alcance de mi comité de Asesoría, está circunscrito a la orientación y guía respecto a la metodología de la investigación realizada para la presente tesis, así como del análisis e interpretación de mis resultados obtenidos, y por lo tanto eximo de toda responsabilidad relacionado al plagio académico a mi Comité de Asesoría y acepto que cualquier responsabilidad al respecto es únicamente mía.

ATTE



César Omar Ocampo Morales

Tesista de licenciatura/UAAAN

I. INTRODUCCION

1.1 Antecedentes

En la industria cervecera se generan subproductos como la masilla y la levadura que pueden ser utilizados, secos o húmedos en la alimentación de rumiantes (Besong *et al.*, 1996). Estos subproductos, además de apetecibles al animal, son, por el proceso a que es sometida la materia prima, buena fuente de proteína no degradable en el rumen (Satter y Whitlow, 1997; Miazzo y Kraft, 1998).

Crosby (1995), indica que no existe respuesta al cultivo de levadura sobre la fermentación y digestibilidad ruminal debido a que no se presenta un efecto sobre el pH ruminal, N-NH₃, tasa de fracción de flujo, volumen ruminal, concentración de ácidos grasos totales, y la digestibilidad total aparente de la materia seca, fibra detergente ácida y fibra detergente neutro. Aun así, se han registrado resultados muy variados en relación a la digestibilidad del alimento utilizando alguno de los dos subproductos (Flachowsky *et al.*, 1993; Mir y Mir 1994; Andrighetto *et al.*, 1993; Plata *et al.*, 1994; Hernández, 1999).

1.2 Justificación

Los subproductos de cervecería son propicios para la elaboración de productos destinados a la alimentación animal, sin embargo a pesar que existe alta disponibilidad de estos subproductos, en la actualidad no se están

aprovechando de manera apropiada, desechándose gran parte en contenedores especiales para no contaminar el ambiente, representando lo anterior un problema para las cerveceras ya que tienen que pagar a empresas especializadas en el tratamiento de desechos biológicos.

Bajo el mismo contexto, existen pocos reportes sobre el efecto nutricional asociativo entre la masilla y la levadura. Preston *et al.*, (1973) reportaron evidencias de que estos subproductos promueven buen desarrollo muscular en toretes de engorda y Monje *et al.*, (1992) le atribuyeron, a la adición de masilla en la dieta de ganado de engorda, efectos productivos muy aceptables, sin embargo, existen pocos trabajos referentes a la degradación de estos ingredientes a nivel ruminal.

Debido a la falta de aprovechamiento de los subproductos de cervecería es importante estudiar parte del valor nutritivo de los alimentos desde el punto de vista de su digestión, con lo anterior se puede tener una idea del impacto que puede tener su adición ya sea en forma individual o combinada con otros ingredientes, generando las bases para la elaboración de mejores programas alimenticios utilizando estos subproductos.

1.3 Hipótesis

Existe una mayor degradación ruminal de los componentes de la masilla y levadura de cerveza cuando se utilizan en forma combinada que cuando se utilizan en forma individual.

1.4 Objetivo general

Evaluar la degradación *in vitro* de la materia seca de los subproductos (masilla y levadura).

1.4.1 Objetivos específicos

- Caracterizar físico-químicamente los subproductos de la industria cervecera mediante las técnicas de FTIR y análisis bromatológico.
- Analizar la degradación *in vitro* de diferentes combinaciones de masilla y levadura.
- Determinar mediante análisis de regresión respuesta a la degradación de la materia seca por unidad de tiempo de cada uno de los subproductos.
- Determinar para este estudio la mejor combinación de los subproductos a la que se alcanza el mejor nivel de degradación de la materia seca.
- Ajustar los resultados obtenidos a distintas tasas de flujo ruminal.

II. REVISIÓN DE LITERATURA

Los rumiantes establecen una simbiosis con los microorganismos ruminales mediante la cual la vaca aporta nutrientes y un medio ruminal adecuado para la supervivencia de los microorganismos y la fermentación de los alimentos, y los microorganismos aportan la capacidad de utilizar la fibra y proteína microbiana sintetizada en el rumen, y que constituyen la fuente principal de energía y proteína, respectivamente, para el animal. Sin embargo, esta relación de simbiosis es ineficiente en algunos aspectos, tanto desde el punto de vista energético (perdidas de metano) como desde el proteico (perdidas de nitrógeno amoniacal; Van Nevel y Demeyer, 1988). estas pérdidas no solo reducen la producción, sino que contribuyen a la emisión de sustancias contaminantes al medio (Tamminga, 1996; Weimer, 1998).

El proceso de fermentación es realizando principalmente en las dos primeras partes del estómago por los microorganismo (protozoarios, hongos y bacterias) que habitan en el rumen (Lovett *et al.*, 2006).

El producto final de los procesos fermentativos ruminales son ácidos grasos volátiles, los cuales son absorbidos a través de las paredes del rumen en un ambiente líquido amortiguado y próximo a la neutralidad, al mismo tiempo que se eliminan continuamente productos solubles de dicho proceso. El rumen nunca se vacía pero con ayuno prolongado el contenido puede llegar a ser cada vez más fluido (Phillipson, 1981).

2.1 Subproductos de cervecería

Una alternativa para disminuir el costo de la suplementación del ganado es la utilización de subproductos de cervecería. Existen varios subproductos derivados de la fabricación de cerveza (grano húmedo, cascarilla y crema final) que pueden utilizarse en la alimentación de novillos de engorda y de vacas productoras de leche.

La levadura de cerveza es un producto obtenido de la fermentación anaerobia de la cerveza formando, entre otros ingredientes, por hongos tipo *Sacharomyces cerevisiae*. La presentación comercial es líquida, tiene un elevado contenido en proteína de alto valor biológico y digestibilidad (mayor de ochenta y cinco por ciento) y vitaminas del complejo B. su uso ayuda a mejorar la rentabilidad de las explotaciones ganaderas, especialmente en la alimentación líquida del porcino (Alainz, 2008).

2.2 Levadura

La levadura utilizada es la *S. cerevisiae* que se utiliza para ciertos procesos industriales como la producción de vinos, cervezas, producción de Etanol, para la panificación fabricación de biomasa, etc. Actualmente se emplean subproductos de la industria cervecera en alimentación para animales, etc. La levadura tiene varios usos dependiendo de su estado, para la panificación se utiliza la levadura como fermentador, la levadura inactiva se utiliza por su alto valor proteico y

vitaminas del grupo B y el extracto de levadura utilizado por su alto valor nutricional. Este se produce de manera aeróbica en tanque fermentadores donde se mezclan melaza, amoníaco y ácido fosfórico y otros micro nutrientes.

Saccharomyces cerevisiae es una levadura que constituye el grupo de microorganismos más íntimamente asociado al progreso y bienestar de la humanidad. Investigaciones realizadas con *S. cerevisiae* en la nutrición de los rumiantes en México durante los últimos años, plantean que no todas las cepas de levadura tienen el mismo modo de acción en los diversos sistemas de producción animal; las diferencias en la respuesta con cepas de *S. cerevisiae* y la interacción que se produce con la dieta que se ofrece a los animales, presentan nuevas oportunidades, así como nuevos problemas, para definir la modificación que causan al metabolismo ruminal, por efecto de las diferentes cepas de cultivos y su diferente cantidad suministrada (Dawson 1992; Ángeles *et al.*, 1998; Lee *et al.*, 2000; Chaucheyras-Durand and Fonty 2001; Miller-Webster *et al.*, 2002; Karma *et al.*, 2002).

Hubert (1987),y Jones y Thomas (1987) mencionan que los cultivos de levadura presentan varias características importantes: a) No son patógenos, ni tóxicos, b) No se absorben en el tracto digestivo, c) No dejan residuos en los tejidos animales, d) Se utilizan en pequeñas cantidades, e) Proliferan *in vivo* e *in vitro*, f) Promueven el crecimiento de bacterias celulolíticas, g) Son estables a temperaturas elevadas y h) No causan mutación.

2.3 Masilla

La cascarilla puede llegar a constituir el 10-14 % del peso del grano. Tiene gran similitud con el grano de avena, diferenciándose porque contiene más almidón y es más redondeado.

Cuando se observa con el microscopio estereoscópico una muestra de granos de cebada molidos, la parte del grano que más fácilmente puede diferenciarse y permite identificar su presencia en una mezcla es la “cascarilla”. Esta estructura se caracteriza por ser relativamente delgada, de brillo opaco y de textura rugosa si se compara con la de la avena. Presenta crestas, y en ocasiones restos de pelos si estos están presentes. Es también característico de esta estructura, fraccionarse en piezas triangulares cuando se somete al proceso de molienda. Otra de las partículas a observar son fragmentos de endospermo, relativamente duro y harinoso (blanco opaco) que generalmente presenta fragmentos de salvado (delgado, color marrón opaco) adheridos.

2.4 Fermentación ruminal

La concentración de las poblaciones microbianas que viven en el rumen en anaerobiosis, específicamente para bacterias, protozoarios y hongos son de 10^{10} /ml, 10^6 /ml y 10^4 /ml respectivamente (Jouany 1994). Para permitir que los organismos de crecimiento lento; tales, como los hongos y protozoarios ruminales puedan reproducirse se necesita permanencia prolongada del alimento dentro del

rumen de 48 a 72 h y sostener así la concentración de las poblaciones microbianas (McAllister *et al.*, 1994). Los tiempos de multiplicación varían de 5-14 h para los protozoarios (Williams y Coleman 1988) y de 24-30 h para los hongos (Bauchop 1981; Joblin 1981).

Es posible que la eficiencia del crecimiento bacteriano este directamente relacionada con la tasa de dilución de las bacterias y/o del contenido ruminal, debido a que las bacterias en el rumen están asociadas a los sólidos alimenticios, al líquido y la pared ruminal; por lo tanto, la tasa de crecimiento bacteriano puede estar en relación a la tasa de dilución del líquido (Aguilera 1988), lo cual se explica porque solamente en cultivos continuos in vitro de estado estable, la tasa de crecimiento específico de los microorganismos es igual a la tasa de dilución del cultivo (Bergen 1979).

2.5 Factores que afectan la fermentación ruminal

Se ha reportado (Gedek *et al.*, 1993) que la adición de levadura *S. cerevisiae* incrementa la concentración de bacterias Gram (-) en el contenido ruminal y también incrementa el contenido de bacterias Gram (-) en las heces, mencionando además, que la levadura estimula el crecimiento de bacterias amilolíticas a nivel ruminal, estos resultados que fueron confirmados por Kumar *et al.*, (1994), Wiedmeier *et al.*, (1987), Harrison *et al.*, (1988), y Dawson *et al.*, (1990) quienes indican que la levadura incrementa el número de bacterias totales, bacterias viables totales, celulolíticas, amilolíticas y protozoarios; sin embargo; se

han encontrado resultados contradictorios por Chiquette (1995), Sohn y Song (1996) y Hernández (1999).

Los protozoarios ruminales que pertenecen al orden Holotricos son capaces de penetrar profundamente dentro de los tejidos de las plantas y causar cierto deterioro y adherirse por medio de un organelo específico de ataque (Orpin y Letcher 1978). Los Holotricos presentan la propiedad de asimilar azúcares solubles y transformar una parte de éstos en polisacáridos de reserva, que almacenan en una estructura similar al almidón; presumiblemente mediante este mecanismo se disminuyen los riesgos de acidosis en animales que consumen niveles altos de glúcidos de fácil digestión (Hungate 1966).

Los protozoarios del orden *Entodimorfos* se asocian a la planta, ingieren pequeñas partículas de alimento o las engloban y se adhieren a fragmentos grandes (Bauchop 1979). Los protozoarios ciliados no son esenciales, pero su actividad puede afectar la nutrición del rumiante (Veira 1986). Al incrementar la frecuencia de alimentación de los rumiantes, se incrementa la concentración de protozoarios, debido a que en el medio ruminal existe un flujo más constante de sustrato para los microorganismos ruminales, este efecto provoca disminución en las variaciones diurnas en las poblaciones de bacterias y protozoarios ciliados. En forma diferente a los *Holotricos*, los *Entodimorfos* metabolizan el ácido láctico y disminuyen el pico de acidosis causado por el exceso de carbohidratos fácilmente fermentables (almidón o azúcares), lo cual además es un ejemplo del efecto amortiguador de los protozoarios (Jouany 1994).

2.6 Microorganismos ruminales

El complejo balance de vida que existe en los diversos ecosistemas no es diferente al que se presenta en el primer compartimento digestivo de los rumiantes, donde cientos de diferentes especies de bacterias, protozoarios y hongos, coexisten en equilibrio ecológico, en una relación de simbiosis única, entre el rumen y los microbios ruminales (Castro, 2008).

El rumiante provee el ambiente y alimento para la población microbiana, la cual al digerir estos alimentos proporcionan a los rumiantes nutrientes centrales en forma de proteína microbiana y ácidos orgánicos como fuente de energía (cuadro 2.1).

La importancia de estos microorganismos se puede argumentar con el hecho de que de cada 15 kg de materia seca consumidos por el animal, 10 kg son degradados y fermentados por los microorganismos ruminales (Angeles, 2002). En los rumiantes, la presencia de bacterias, protozoarios y hongos le permite cubrir hasta el 100% de sus requerimientos energéticos a partir de carbohidratos estructurales como celulosa, y hemicelulosa además, le permite utilizar fuentes de nitrógeno no proteico (urea, amoníaco) para cubrir una parte de sus necesidades de proteína y además, lo hace independiente de una suplementación de vitaminas hidrosolubles para cubrir sus requerimientos (Church, 1974; Rodríguez y Valencia, 2008).

Cuadro 2.1.- Tipo de microorganismos presentes en el rumen

Celulolíticos	Hemicelulolíticos
<i>Bacteriodes succinogenes</i>	<i>Butyrivibrio fibrisolvens</i>
<i>Ruminococcus flavefaciens</i>	<i>Bacteriodes ruminicola</i>
<i>Ruminococcus albus</i>	<i>Ruminococcus sp.</i>
<i>Butyrivibrio fibrisolvens</i>	
Utilizadores de azúcar	Utilizadores de ácidos
<i>Treponema bryantii</i>	<i>Megasphaera elsdenii</i>
<i>Lactobacillus vitulinus</i>	<i>Selenomonas ruminantium</i>
<i>Lactobacillus ruminus</i>	
Pectinolíticos	Utilizadores de lípidos
<i>Butyrivibrio fibrisolvens</i>	<i>Anaerovobrio lipolytica</i>
<i>Bacteriodes ruminicola</i>	<i>Butyrivibrio fibrisolvens</i>
<i>Lachnospira multiparus</i>	<i>Treponema bryantii</i>
<i>Succinivibrio dextrinosolvens</i>	<i>Eubacterium sp.</i>
<i>Treponema bryantii</i>	<i>Fusocillus sp.</i>
<i>Streptococcus bovis</i>	<i>Micrococcus sp.</i>
Amilolíticos	Proteolíticos
<i>Bacteriodes amylophilus</i>	<i>Bacteriodes amylophilus</i>
<i>Bacteriodes ruminicola</i>	<i>Bacteriodes ruminicola</i>
<i>Streptococcus bovis</i>	<i>Butyrivibrio fibrisolvens</i>
<i>Succinimonas amylolytica</i>	<i>Streptococcus bovis</i>
Productores de amoniaco	Productores de metano
<i>Bacteriodes ruminicola</i>	<i>Methanobrevibacter ruminantium</i>
<i>Selenomonas ruminantium</i>	<i>Methanobacterium formicicum</i>
<i>Megasphaera elsdenii</i>	<i>Methanomicrobium mobile</i>
Ureolíticos	
<i>Succinivibrio dextrinosolvens</i>	<i>Ruminococcus bromii</i>
<i>Bacteriodes ruminicola</i>	<i>Butyrivibrio sp.</i>

Selenomonas sp.

Treponema sp.

Church, 1998

2.7 Digestibilidad

Se le conoce como digestibilidad a la cantidad de alimento ingerido menos el excretado entre el ingerido. El consumo y la digestibilidad han sido áreas de gran interés para los nutricionistas, donde la técnica de los indicadores ha contribuido notablemente (Kotb y Luckey, 1972).

El conocimiento del valor nutritivo de los alimentos es fundamental para la nutrición animal, no siendo suficiente con los análisis químicos, hay que considerar los efectos de los procesos de digestión absorción y metabolismo animal (Bondi, 1989). Las pruebas de digestibilidad permiten estimar la proporción de nutrientes presentes en una ración que pueden ser absorbidos por el aparato digestivo (Church y Pond, 1994).

El análisis de la digestibilidad de los alimentos es de gran importancia, ya que existen diferentes moléculas que son fácilmente absorbibles y otras que son resistentes a la degradación (Minson 1982). La digestión de un ingrediente depende de los siguientes factores importantes: a) La cantidad del ingrediente, b) Las propiedades intrínsecas del mismo y c) La interacción entre los ingredientes. La tasa de digestión es la interpretación de las curvas de la degradación acumulativa y se refiere a la cantidad de alimento que puede ser digerido por unidad de tiempo (Singh *et al.*, 1992). Ushida *et al.*, (1990) mencionan que el

efecto de los protozoarios sobre la digestión de la pared celular de los vegetales son más marcados en dietas suplementadas con almidón, con cierta disminución en la digestión de los carbohidratos de la pared celular. Los protozoarios tienen mayor efecto sobre la digestión de la hemicelulosa en comparación con la celulosa (+53 para hemicelulosa vs +23 % celulosa). La cantidad de fibra detergente neutro (FDN) en el forraje no está directamente relacionada al contenido de FDN degradable en rumen, los factores físicos y químicos que limitan la digestión de la pared celular de los forrajes pueden ser diferentes a los asociados con los granos.

La digestibilidad depende mayormente de la composición nutritiva de la ración en estudio, siendo a su vez afectada por el hecho de que las heces contienen cantidades importantes de materiales de origen no dietético (Merchen, 1993). Estas, constituyen una importante vía de excreción de compuestos nitrogenados, grasos, minerales y glúcidos no fibrosos de origen endógeno (Church y Pond, 1994), encontrándose reportes que indican que no hay secreción de carbohidratos a nivel intestinal (Bondi, 1989). A esto se debe que los coeficientes de digestibilidad determinados por diferentes métodos se denominan “aparentes”. Es difícil cuantificar con exactitud las cantidades de origen endógeno de un determinado elemento presente en las heces, ocasionando la subestimación de su digestibilidad verdadera.

El rumen es una cámara de fermentación predominantemente anaeróbica. Tiene un pH variable, producto de la misma fermentación microbiana y metabolismo corporal (Mora, 2007). Estimar la digestibilidad de un alimento por el

método convencional *in vivo* resulta demorado, costoso, limita la cantidad de alimentos a evaluar simultáneamente, y exige grandes cantidades de alimento (Pires *et al.*, 1979). Por estas y otras razones han sido desarrolladas técnicas *in vitro* con la finalidad de realizar los ensayos en el laboratorio, de los procesos digestivos que ocurren en los rumiantes. Actualmente se ha desarrollado un nuevo método para obtener la digestibilidad *in vitro* de los alimentos. Este método conocido como Fermentador ruminal DAISY¹¹ de ANKOM, Technology Corporation, EUA. Procedimiento presentado por Santos *et al.*, (1997).

2.8 Métodos de digestibilidad *in vitro*

El método del saliva-pepsina (Tilley y Terry, 1963) es uno de los métodos mas usados para predecir la digestibilidad *in vivo* (Clancy y Wilson, 1966; De Boever *et al.*, 1988). Semejante a otras, esta técnica y sus variantes simulan la digestión gástrica por lo tanto es más exacta la determinación de la digestibilidad de muchos forrajes (Tilley y Terry, 1963; De Boever *et al.*, 1988).

Los problemas presentes en este método es la obtención de líquido ruminal que se hace directo de animales fistulados, además, de lo difícil que es encontrar animales fistulados debido al costo de su manutención y de la cirugía.

Los resultados de la técnica también son afectados por la calidad del líquido ruminal que puede modificarse debido al, proceso, a la dieta y a la especie animal donante, a la época de la colección y a las condiciones anaerobias, el pH y la temperatura óptimos (Tilley y Terry, 1963; Clancy y Wilson, 1966).

La mayoría de estos problemas pueden ser prevenidos realizando estandarizaciones en los métodos (Tilley y Terry, 1963), pero algunos otros efectos tales como, la digestión postgástrica, la tasa de paso de la digesta y la digestión de compuestos nitrogenados insolubles también pueden afectar.

Algunos de estos factores han conducido a las diferencias en el método *in vitro* y el método *in vivo* causando predicciones bajas de la digestibilidad *in vivo*. Varios trabajos realizados han encontrado datos exactos para forrajes frescos, sin embargo en ensilajes y pajas es menor la predicción de la digestibilidad con el método de la saliva-pepsina (Klopfenstein *et al.*, 1972; Adesogan *et al.*, 1998; Givens *et al.*, 1993).

Varias técnicas basadas en la celulasa se han utilizado con un cierto éxito, para estimar digestibilidad del forraje. Comparado con los métodos de líquido ruminal, tales métodos son generalmente más simples, menos tardados y no requieren de animales fistulados. El problema principal con estas técnicas es la variabilidad de las preparaciones enzimáticas debido a la incubadora y a la fuente de la enzima.

Sin embargo, las predicciones basadas en la digestibilidad enzimática de la energía *in vivo* también varían con la especie de forraje, la población microbial y el estado de madurez de la planta (Barber *et al.*, 1989; Givens *et al.*, 1993) tales implicaciones han limitado su uso, además de las diferencias de los procesos.

Dependiendo del laboratorio, la solubilidad de la celulosa se realiza con pepsina o el tratamiento detergente neutro.

Otras variaciones implican incluyendo la amilasa y los tratamientos previos de la gamannasa para el almidón y los alimentos ricos en grasa respectivamente. Mientras que algunos resultados indican que el procedimiento de la pepsina-celulasa es más exacto otros favorecen el procedimiento de la celulosa detergente neutro. Sin embargo, el método de la celulasa-pepsina es más fácil de manipular, propenso a menos errores y requiere pocas horas para terminar, aunque la técnica del detergente neutro también requiere pocos días (Dowman y Collins, 1982). Mientras que tales métodos no requieren animales fistulados, su uso continúa siendo limitado por la variabilidad de la actividad enzimática y porque resulta inadecuado el tipo de enzimas empleadas durante la digestión *in vivo*.

Sin embargo, la técnica desarrollada por Van Soest y sus colaboradores (Van Soest *et al.*, 1966) supone una alternativa al método de Tilley y Terry, ya que permite una valoración más rápida de los alimentos sin afectar negativamente a la precisión del valor obtenido (Van Soest, 1994). Este procedimiento consiste en una incubación de los alimentos con líquido ruminal durante 48 h a 39°C, seguida del tratamiento del residuo obtenido con una solución neutro-detergente durante 1 h a 100°C, y los valores obtenidos se consideran una estimación de la digestibilidad real de los alimentos (Van Soest *et al.*, 1966).

2.9 Digestor DAISY

La incubadora DAISY de ANKOM fue introducida recientemente para hacer más fácil la valoración de la digestibilidad *in vitro*. El método puede digerir varias muestras de del forraje en bolsas dentro de los frascos de cristal, los cuales se rotan en un compartimiento aislado. Cuando se reduce la cantidad de muestra, manteniendo constante el volumen de inóculo, se incrementa la estimación de la digestibilidad y la variabilidad se duplica. Por eso cuando se necesita analizar un gran número de muestras se puede reducir el peso de la muestra en función de economizar en reactivos (González *et al.*, 1990).

Esta técnica permite evaluar un gran número de muestras al mismo tiempo. El sistema DAISY¹¹ es eficiente y una alternativa viable para el análisis *in vitro* (Garman *et al.*, 1997). Cuando se requiere de analizar una gran cantidad de muestras y los reactivos resultan costosos, la cantidad de muestra se puede reducir siempre y cuando el volumen de inóculo permanezca constante (González *et al.*, 1990). Ya que los resultados obtenidos *in vitro* son similares a los realizados *in situ*.

La técnica reduce perceptiblemente la excesiva mano de obra relacionada a la valoración *in vitro* de la digestibilidad y permite la inoculación de varias muestras en el incubador. Varios autores han demostrado que la técnica da predicciones relativamente exactas de la digestibilidad verdadera *in vitro* (Julier *et al.*, 1999; Vogel *et al.*, 1999; Wilman y Adesogan, 2000). También puede ser utilizado para

estimar los índices de la degradación de alimentos. No obstante los resultados de la digestibilidad obtenidos pueden ser afectados por el tamaño de muestra y método de proceso, la proximidad de los frascos incubadores a alguna fuente de calor y al grado al cual las bolsas se sumergen en el contenido ruminal (Adesogan A.T. Inedito).

III. MATERIALES Y METODOS

El proyecto se llevó a cabo en la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro en el laboratorio de Producción Animal, y en el laboratorio de Polímeros de la facultad de ciencias químicas de la UAdeC.

3.1 Materia prima

La masilla y levadura fueron proporcionadas por la empresa cervecera Cuauhtémoc Moctezuma, ubicada en Monterrey, Nuevo León y transportadas en contenedores herméticos de 50 L, posteriormente almacenadas a 4 °C hasta su uso.

La levadura se dejó reposar por 24 horas y posteriormente se decantó. Una vez eliminada el agua y los sólidos suspendidos fue secada hasta peso constante en una estufa a 60 °C, al final la muestra seca fue sometida a una reducción de tamaño de partícula mediante el empleo de un molino (Thomas-Wiley) hasta un tamaño de 1 mm.

3.2 Caracterización FQ (Físico-química) de la materia prima

3.2.1 FTIR

La espectroscopía infrarroja por transformadas de Fourier (FTIR) se llevó a cabo mediante el empleo de un instrumento Perkin-Elmer equipado con una reflexión simple de puerta de oro, atenuado por un accesorio refractante total (ATR) colocado en el compartimiento de la muestra con una resolución de 1 cm^{-1} . Se realizó un barrido de 500 a 4000 cm^{-1} . El espectro obtenido fue normalizado y se corrigió la línea base con un software IR-Perkin-Elmer. Posteriormente estos datos fueron exportados a Sigma Plot. Para el análisis se emplearon muestras con tamaño de partícula homogéneo.

3.2.2 Proteína

Se pesaron 1 g de muestra previamente homogeneizada en un matraz de digestión Kjendahl. Posteriormente se agregaron 3 perlas de vidrio, con 10 g de sulfato de potasio o sulfato de sodio, 0.5 g de sulfato cúprico y 20 ml de ácido sulfúrico concentrado y se conectó el matraz a la trampa de absorción que contiene 250 ml de hidróxido de sodio al 15% se dejó calentando en manta calefactora y una vez que la solución presentó una coloración transparente, se dejó en ebullición 15 a 20 minutos más. Posteriormente se dejó enfriando y se agregaron 200 ml de agua.

Una vez alcanzando temperatura ambiente se conectó el matraz al aparato de destilación, donde se agregaron lentamente 100ml de NaOH al 30 % por el embudo, y se cerró la llave. Posteriormente se destiló a un volumen no menor de 150 ml en un matraz que lleve sumergido el extremo del refrigerante o tubo colector en 50 ml de una solución de ácido sulfúrico adicionado de 0.1, 4 a 5 gotas de rojo de metilo y 50 ml de agua destilada. Finalmente se tituló el exceso de ácido con NaOH 0.1 N hasta observar una coloración amarilla.

Cálculos y determinaciones

$$\% N = \frac{14 \times N \times V \times 100}{m \times 1000}$$

$$\% \text{ Proteína} = \frac{14 \times N \times V \times 100 \times \text{factor}}{m \times 1000}$$

Donde:

V : 50 mL H₂SO₄ 0.1 N - gasto NaOH 0.1 N o gasto de HCl 0.1 N

m : masa de la muestra, en gramos

Factor: 6.25: para carne, pescado, huevo, leguminosas y proteínas en general

5.7: para cereales y derivados de soya

6.38: leche

5.55: gelatina

5.95: arroz

3.2.3 Grasa

Para la determinación de grasa en las muestras se siguió el siguiente procedimiento:

Se molió y paso a tamiz de malla de 1mm, se peso de 2 a 5 gramos de muestra preparada en el dedal de extracción o papel filtro previamente pesado y tapado con algodón desgrasado, se puso el matraz de extracción en el sistema Soxhlet el dedal en el tubo de extracción y se adicono el solvente al matraz, luego, se extrajo la muestra con el solvente por 6 a 8 horas a una velocidad de condensación de 3-6 gotas/segundo.

Una vez terminada la extracción se eliminó el solvente por evaporación en rotavapor o baño Maria bajo campana. Hasta que no se detectó olor a éter, posteriormente, se sacó el matraz con la grasa en estufa a 103 C por 10 minutos, se enfrió en desecado y se pesó.

Cálculos y determinaciones

$$\% \text{ grasa cruda} = \frac{m_2 - m_1}{m} \times 100$$

Donde: m peso de la muestra

m_1 tara del matraz solo

m_2 peso matraz con grasa.

1 0 0

$$\% \text{ grasa cruda en base seca} = \% \text{ grasa cruda} \times \frac{100}{100 - \% \text{ humedad}}$$

Donde: m peso de la muestra

m_1 tara del matraz solo

m_2 peso matraz con grasa.

3.2.4 Fibra

Se pesaron 0.5 g de muestra y se transfirió en el matraz del aparato de calentamiento a reflujo, se agregó 1.5 a 2 g de fibra de cerámica preparada, se agregó 200 ml de H_2SO_4 al 0.255N, hirviendo, gotas de antiespumante y perlas de vidrio, se conectó el aparato de calentamiento de reflujo y se dejó temperatura de ebullición durante 30 minutos, rotando el matraz periódicamente, se desmontó el equipo y filtró a través del embudo Buchner tipo California o sus alternativas; posteriormente se lavó con 50 a 75 ml de agua hirviendo, se repitió el lavado con 3 porciones de 50 ml de agua o hasta que cesó la reacción ácida.

Luego se retornó el residuo al aparato de calentamiento a reflujo e hirvió exactamente durante 30 minutos, rotando el matraz periódicamente.

Al final se lavó con 25 ml de H_2SO_4 0.255N, hirviendo, con 3 porciones de 50 ml de agua hirviendo y con 25 ml de etanol al 95%, se removió el residuo y transfirió al crisol, se dejó secando en estufa a 130 C por 2 horas, se enfrió en

deseCADador y se pesó. Se incineró 30 minutos a 600 C, se enfrió en deseCADador y pesó.

Cálculos y determinaciones

$$\% \text{ Fibra} = \frac{(\text{Peso después de la digestión} - 0.3922)}{\text{Peso de muestra}} \times 100$$

3.2.5 Materia seca

Se pesó la muestra en la charola de aluminio, se colocó la muestra en la estufa y se dejó secando por 24 horas. Después se retiró la muestra de la estufa y se redujo el tamaño de partícula en un molino con una malla de 1mm

$$\text{MS} = (\text{peso de muestra húmeda} - \text{peso de la muestra seca})$$

3.2.6 Prueba de digestibilidad in vitro (digestor Daisy)

Las muestras subproductos fueron incubadas *in vitro* de acuerdo con la metodología Daisy^{II}(ANKOM Corp, NY, EEUU 2008). El medio estuvo compuesto por una solución macromineral (9.35 g/l de Na₂HPO₄.12H₂O, 6.2 g/l de KH₂ PO₄ y 0.6 g/l de MgSO₄.7H₂O), una solución micromineral (132 g/l de CaCl₂.2H₂O, 100 g/l de MnCl₂.4H₂O, 10 g/l de CoCl₂.6H₂O y 80 g/l de FeCl₃.6H₂O), una solución tampón (4.0 g/l de NH₄HCO₃ y 35 g/l de NaHCO₃), indicador (0.01 g/l de rezasurina) y agente reductor (625 mg HCl cisteína, 95 ml de agua destilada, 4.0

ml de 1M NaOH y 625 mg de $\text{Na}_2\text{S}\cdot 9\text{H}_2\text{O}$). Estas soluciones se mezclaron en el siguiente orden y proporción: 500 ml de agua destilada, 200 ml de solución tampón, 200 ml de solución micromineral y 1 ml de solución indicadora.

Cinco horas antes de la inoculación, las jarras fueron removidas del refrigerador y llevadas a una estufa de ventilación forzada a 39° C. Una vez el medio alcanzó esta temperatura, se adicionó el líquido ruminal a cada jarra en una proporción de 4:1. (1600 ml de medio de cultivo y 400 ml de líquido ruminal). La solución fue vigorosamente agitada para permitir una mezcla uniforme, luego fue transferida para un extractor de gases y saturada continuamente con CO_2 , hasta ser llevada al sistema Daisy^{II} para iniciar la incubación.

Las muestras de cada tratamiento se incubaron en ocho tiempos diferentes: 0, 3, 6, 12, 24, 48, 72, y 96 h, determinando para cada tratamiento la digestibilidad *in vitro* de la materia seca en % (DIVMS). La obtención del inóculo se realizó mediante la recolección de líquido ruminal provenientes de animales recién sacrificados en un rastro tipo TIF. Los animales de los que se obtuvo el líquido provenían de un mismo lote de una unidad de producción. Dichos animales recibían una dieta con una proporción de forraje: concentrado de 30:70.

Después de haber retirado las bolsas estas fueron lavadas manualmente con agua corriente hasta que escurrió limpia. Las bolsas fueron colocadas en bandejas de plástico y secadas en estufa de ventilación forzada a 65° C por 72 horas. Después de este tiempo, fueron transferidas para desecador por un periodo de 30

minutos y se pesaron. La diferencia entre el peso inicial de la muestra colocada en las bolsas y el peso del residuo después de la incubación, descontándose el peso de la bolsa vacía, fue utilizada para determinar la desaparición de la MS en el rumen (Ørskov and McDonald 1979).

Cálculos y determinaciones

$$\%DIV = 100 - \frac{(W_3 - (W_1 \times C_1))}{W_2} \times 100$$

$$\%DIV Ms = \frac{100 - (W_3 - (W_1 \times C_1))}{W_2 \times Ms} \times 100$$

Donde:

W_1 = Peso de la bolsa tarada

W_2 = Peso de la muestra

W_3 = Peso final de la muestra después de la digestión in vitro

C_1 = Corrección de la bolsa (blanco) (peso original de la bolsa/peso final).

Ms = % de materia seca.

3.3 Determinación de tasa de flujo ruminal

Debido a que la degradabilidad efectiva en el rumen de la fracción potencialmente degradable depende de la velocidad de tránsito ruminal y de su velocidad de degradación los resultados de degradación in vitro a diferentes

tiempos fueron ajustados mediante análisis de regresión a tasa de flujo ruminal (k) (McDonald, 1981) mediante la utilización del paquete computacional NEWAY Program (Rorer Research Institute).

3.4 Tratamientos

La variación en los tratamientos utilizados se basaba en diferentes niveles de masilla y levadura de cervecería. Las diferentes combinaciones se muestran en el cuadro 3.1.

Cuadro 3.1. Tratamientos de masilla y levadura

	Masilla	Levadura
T1	0	100
T2	25	75
T3	50	50
T4	75	25
T5	100	0

IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El IR por transformadas de Fourier (figura 4.1) es utilizado de manera exitosa para la caracterización parcial de diversas materias primas (Contreras-Esquivé., *et al* 2009); es considerado como una huella digital del compuesto el cual se caracteriza por presentar ciertas regiones: 3100-3600 cm^{-1} grupos O-H, esta absorción puede ser debida a los puentes de hidrógeno y contenido de agua en la molécula presentando un pico mayor en las muestras húmedas, lo cual puede ser debido a la cantidad de agua libre presentes en ellas; C-H en la región 2800-300 cm^{-1} que incluye CH, CH₂ y CH, donde se puede observar que la masilla tanto húmeda como seca presenta un pico que no se observa en la levadura; en los 1200-1800 cm^{-1} se caracteriza por la región de los grupos carboxilos observándose un pico mayor en la masilla debido posiblemente que la masilla empleada proviene de un proceso fermentativo productor de alcohol.

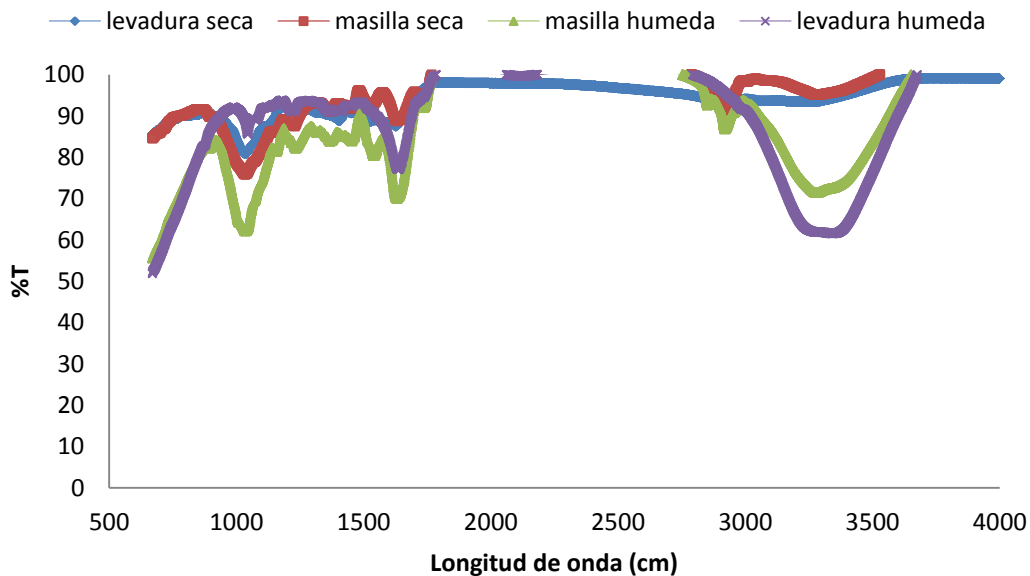


Figura 4.1 Análisis FTIR

Los resultados del análisis bromatológico se presentan en el cuadro 4.1.

Cuadro 4.1.- Promedios porcentuales de los tratamientos en base al análisis bromatológico.

	MSP %	MST %	EE %	CENIZAS%	PC %	FC%	FDN%	FDA%	ELN%
100 L: 0 M	16.9	15.9	2.3	7.4	46.9	3.1	1.05	1.01	40.3
75 L: 25 M	17.69	16.7	4.125	6.6	41.525	7.97	12.2875	6.5075	39.78
50 L: 50 M	18.48	17.5	5.95	5.8	36.15	12.84	23.525	12.005	39.26
25 L: 75 M	19.27	18.3	7.775	5	30.775	17.71	34.7625	17.5025	38.74
0 L: 100 M	20.06	19.1	9.6	4.2	25.4	22.58	46	23	38.22

Los resultados de la determinación de la degradación se presentan en el cuadro 4.2

Cuadro 4.2.- Promedios porcentuales de la DIV (digestibilidad in vitro de la materia seca) para diferentes combinaciones de masilla y levadura.

Tiempo (h)	100 L:0 M	75 L: 25M	50 L: 50 M	25 L: 75 M	0 L: 100 M
0	0.27	0.27	0.10	0.12	0.39
3	9.34	9.34	10.64	6.12	7.48
6	27.75	27.75	22.21	20.71	15.42
12	37.33	37.33	25.46	30.55	20.54
24	51.35	51.35	41.35	55.34	35.33
48	63.71	65.27	61.57	65.73	55.92
72	69.11	69.11	62.52	68.87	66.04
96	78.26	78.26	68.23	71.54	76.33

Se puede apreciar en términos generales una mejor DIVMS de la levadura en comparación de la masilla. Además es importante señalar que la DIVMS se aumenta en los tratamientos que incluyen masilla cuando se adiciona levadura (figura 4.2).

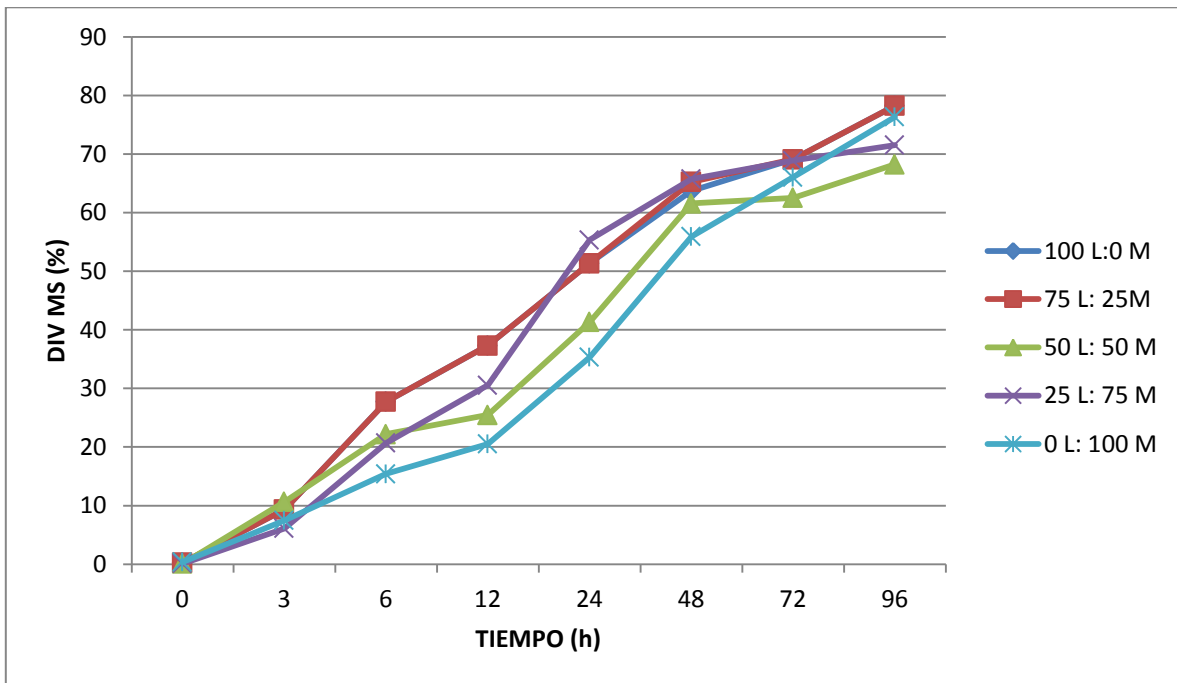


Figura 4.2.- Digestibilidad de los tratamientos con combinaciones de masilla y levadura.

Aún con las anteriores aseveraciones un punto fundamental en este primer análisis se puede apreciar al observar el comportamiento de la combinación 25%L: 72%M. En dicha combinación la DIVMS se mantiene más baja que cuando se utiliza simplemente levadura, sin embargo, a partir de un tiempo de degradación de 24 h, la DIVMS para la combinación 25%L: 72%M aumenta por encima de los valores registrados cuando solo se utiliza levadura. Dicha situación puede explicarse posiblemente con un efecto asociativo de los subproductos. Guerrero

(2009) señala que cuando se utilizan niveles de hasta 20% de masilla en la ración de toretes de engorda los rendimientos productivos pueden verse disminuidos, sin embargo, dicho autor menciona que la adición de levadura a dietas que contienen ciertos niveles de masilla puede regular los efectos negativos causados por la inclusión simplemente de masilla. Esto posiblemente se deba a que la masilla contenga un elevado contenido de MS potencialmente degradable sin embargo su naturaleza química (alto contenido de FDN) limita su utilización por parte de los microorganismos en las primeras horas de incubación, sin embargo, cuando se proporciona a los microorganismos un sustrato más fácilmente fermentable como lo es la levadura se estimula y se da tiempo para que a cierto tiempo ocurra el mayor aprovechamiento de la masilla por parte de los microorganismos impactando obviamente sobre la DIVMS de manera global.

Ahora bien, realizando un análisis individual de cada tratamiento se pueden hacer analogías sobre el comportamiento de ciertos parámetros como del punto en que se alcanza la mayor degradación y la rapidez con la que se alcanza la mayor degradación. En las figuras 2, 3, 4, 5, 6 se pueden observar las regresiones matemáticas para cada tratamiento donde el análisis estadístico arroja un efecto significativo para un ajuste de línea cuadrático ($P < 0.05$).

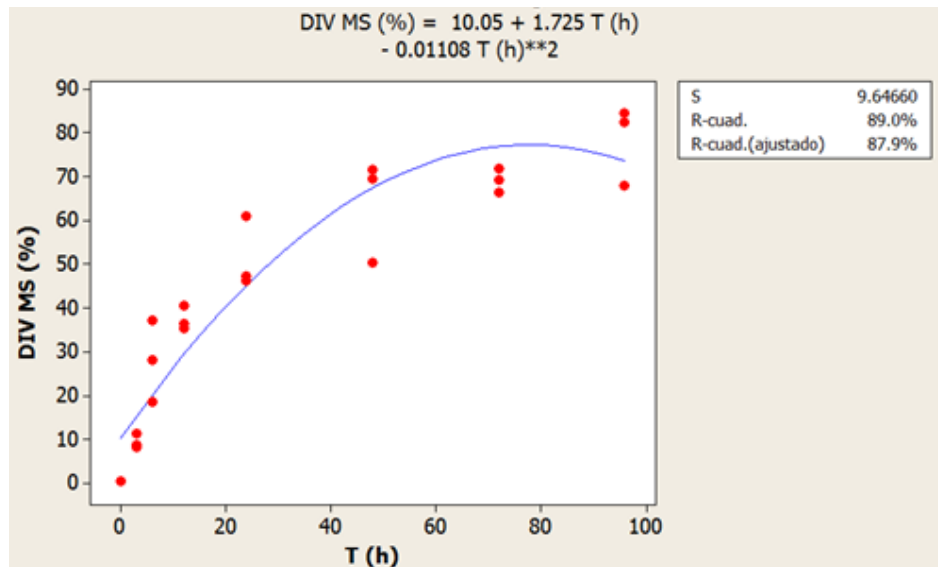


Figura 4.3.- Regresión y ajuste de datos de DIVMS para muestras de alimento con 100 % de levadura y 0 % de masilla.

En la figura anterior la regresión cuadrática genera la ecuación de predicción $Y = 10.05 + 1.725 (t) - 0.01108 (t^2)$ lo a que su vez permite determinar rango de tiempo (75:82 h) al que ocurre la mayor degradación (75:77% DIVMS). Con la línea ajustada a las observaciones de cada tratamiento se puede establecer para cual combinación de masilla y levadura se alcanzó una mayor degradación y para cual se alcanzó más rápido ese pico de degradación.

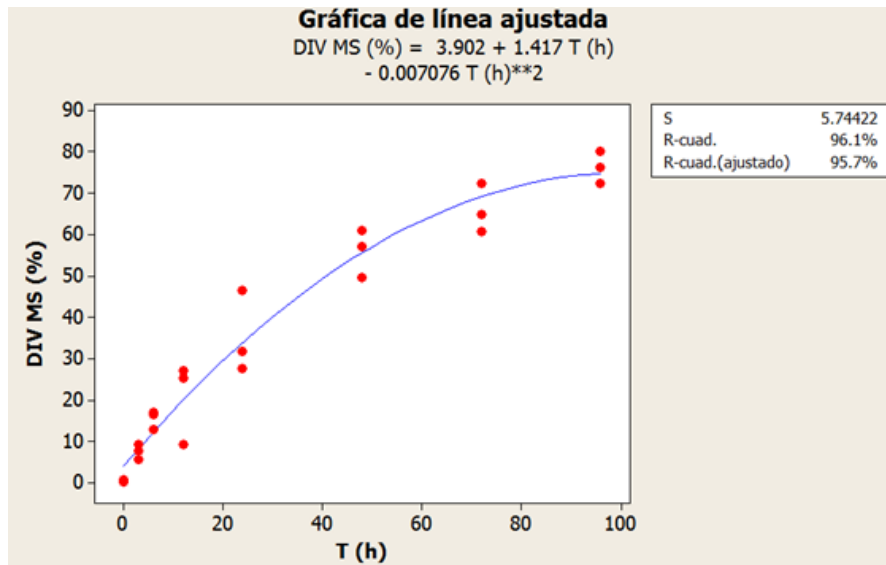


Figura 4.4.- Regresión y ajuste de datos de DIVMS para muestras de alimento con 25 % de levadura y 75 % de masilla.

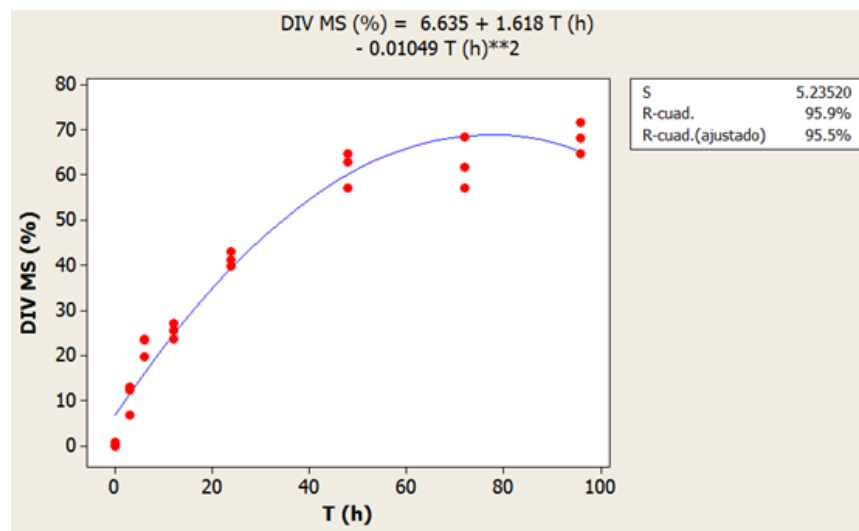


Figura 4.5.- Regresión y ajuste de datos de DIVMS para muestras de alimento con 50 % de levadura y 50 % de masilla.

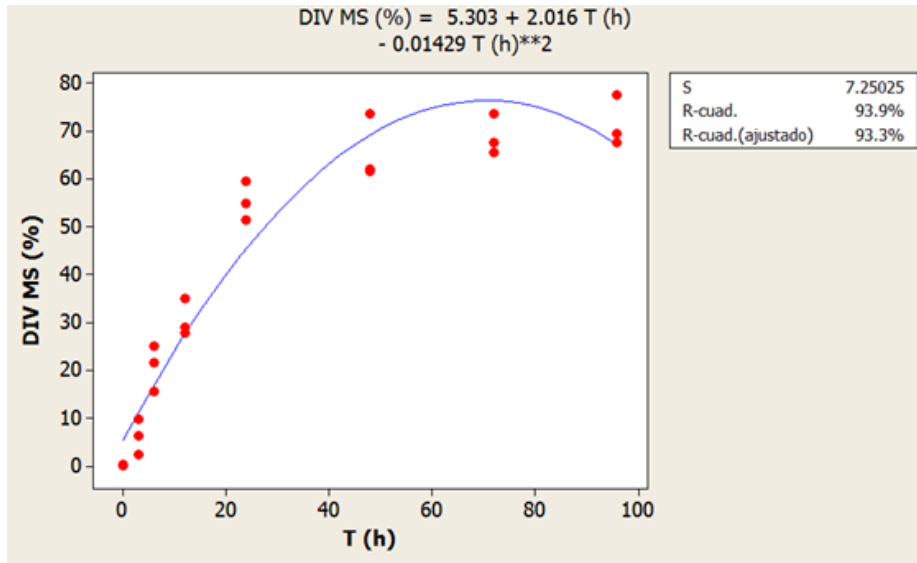


Figura 4.6.- Regresión y ajuste de datos de DIVMS para muestras de alimento con 25 % de levadura y 75 % de masilla.

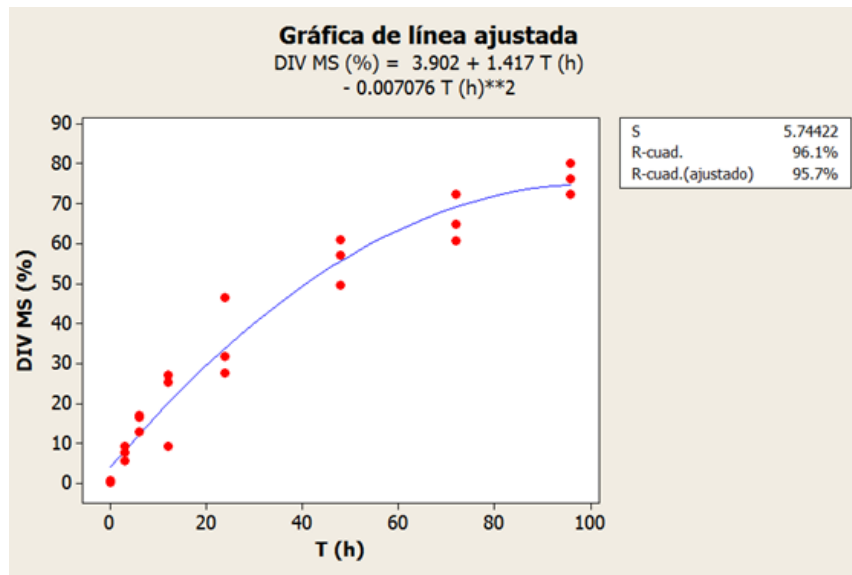


Figura 4.7.- Regresión y ajuste de datos de DIVMS para muestras de alimento con 0 % de levadura y 100 % de masilla.

Cuadro 4.3.- Valores máximos alcanzados de DIVMS para cada combinación de los subproductos y tiempo requerido para alcanzar los mayores niveles de degradación.

T	Pico de degradación (% DIVMS)	Tiempo alcanzado (h)
100%L:0%M	75:77	75:82
75%L:25%M	73:75	89:90
50%L:50%M	68:70	75:81
25%L:75%M	73:75	68:74
0%L:100%M	73:75	93:94

Rosero y Posada (2007) señalan que La cinética de degradación ruminal de la materia seca (MS), de nitrógeno (N) y de algunos constituyentes de la pared celular puede ser descrita a través de modelos no lineales. El modelo propuesto por Orskov y McDonald (1979) para la degradación del N ha sido el más utilizado.

Las anteriores proposiciones refuerzan el hecho de un posible efecto asociativo importante entre ambos subproductos ya que al parecer la mejor combinación de subproductos en relación a la DIVMS y en base al tiempo se encuentra con un 75% de masilla y 25 % de levadura, ya que si bien el mayor porcentaje de degradación de esta combinación es prácticamente similar a la combinación 100% de levadura 0% de masilla el tiempo necesario para alcanzar dichos valores de DIVMS se reduce de un rango de 75:82 horas a uno de 68:74 horas lo que sugiere que los componentes de fácil degradación de la levadura dan el tiempo necesario para una adaptación por parte de los microorganismos para

que en cierto tiempo alcancen una máxima degradación de los componentes de la masilla, situación que no sucede cuando se utiliza 100, 50 o 25 % de masilla.

Por otra parte es importante considerar que el las simulaciones tanto *in vitro* como *in situ* no consideran el hecho de que el rumen es una cámara de fermentación de flujo continuo por lo que estimación de la DIVMS mediante ecuaciones de predicción con diferentes tasas de flujo ruminal (k) provee mejor información sobre el posible comportamiento de la digestión de la materia seca a nivel ruminal.

Cuadro 4.4.- Degradación *in vitro* de la materia seca ajustados a diferentes tasas de flujo ruminal para cada combinación de masilla y levadura.

T	Tasa de flujo ruminal (k)												Linea ajustada
	0.01	0.02	0.03	0.04	0.05	0.06	0.07	0.08	0.09	0.10	0.11	0.12	
100%L:0%M	61	54.4	49.2	45	41.5	38.5	36	33.9	32	30.3	29	28	$Y = 4.16 + 65.4 (1 - \text{EXP}(-.0661 t))$
75%L:25%M	62.2	53.8	47.6	42.8	39.1	36	33.4	31.3	29.5	27.9	27	25	$Y = 5.45 + 68.78 (1 - \text{EXP}(-.0472 t))$
50%L:50%M	55.9	46.9	40.8	36.2	32.8	30.1	27.9	26.1	24.6	23.4	22	21	$Y = 5.85 + 64.03 (1 - \text{EXP}(-.0355 t))$
25%L:75%M	60	51.9	45.6	40.6	36.5	33.1	30.2	27.7	25.5	23.6	22	21	$Y = 5.55 + 76.28 (1 - \text{EXP}(-.0608 t))$
0%L:100%M	60	45.7	37.2	31.7	27.8	24.8	22.6	20.8	19.4	18.2	17	16	$Y = 4.14 + 85.30 (1 - \text{EXP}(-.0189 t))$

Este cuadro expresa la forma en que se espera que se comporte la degradación ruminal en base a la tasa de flujo ruminal y su comportamiento en base a los 5 tratamientos y la forma en que se puede ajustar la tasa de flujo ruminal.

La fermentación de las fracciones nutricionales en el rumen obedece a una fase inicial de digestión lenta, seguida de una fase de aceleración y otra de

desaceleración hasta alcanzar un valor asintótico, al que se le ha llamado digestibilidad potencial (Mertens, 1993). Este valor puede variar de acuerdo al tipo de alimento, a su estado de madurez y a la naturaleza y nivel de suplementación.

Con la tasa de flujo ruminal se puede regular el tiempo que dura el alimento en el rumen para poder utilizar combinaciones que no se podrían aprovechar por el tiempo, los ajustes de tiempo se pueden realizar manipulando los insumos con los que se van a dar para aumentar el tiempo y así tener un mayor aprovechamiento y mayor cantidad de combinaciones útiles.

Es de esta manera, como el conocimiento de las tasas de degradación ha conducido a la elaboración de modelos que tratan de explicar los procesos dinámicos de la digestión, con el propósito de aclarar los mecanismos del consumo de alimentos y a la vez lograr mejores mediciones de su valor nutritivo (NRC 2001, CNCPS 2003).

Existen muchos modelos matemáticos que se han utilizado para ajustar los datos de degradabilidad ruminal (Waldo et al 1972, Ørskov y McDonald 1979, McDonald 1981, Mertens y Ely 1982, Nocek y English 1986), sin embargo, el modelo de primer orden propuesto por Ørskov y McDonald (1979) es el más usado. En general los modelos presentan ajustes particulares con respecto al publicado por Waldo et al (1972), por ejemplo, el de McDonald (1981) introduce un elemento denominado tiempo de retraso, —periodo lag o fase prefermentativa— mientras que el de Mertens y Ely (1982) no diferencia en la expresión matemática

la solubilidad inicial (fracción a) y la fracción potencialmente degradable (fracción b) presentándolas como un solo parámetro que conlleva a un sesgo en aquellos casos en los que la fracción a realmente existe.

El principal problema del modelo de Ørskov y McDonald (1979) es que puede producir estimativos negativos de la fracción a, especialmente para alimentos de baja calidad y fracciones fibrosas (Lavrenčič *et al* 1997), lo cual es biológicamente ilógico, aunque pueda ser matemáticamente válido. Éstos estimativos negativos de la fracción a pueden representar una fase de retraso en la degradación de la fracción potencialmente degradable al inicio de la incubación y pueden ser corregidos introduciendo una fase discreta lag (McDonald, 1981). Tratando de corregir estos inconvenientes, se han propuesto otros modelos (Mitscherlich, Gompertz, Von Bertalanffy, Michaelis-Menten) que no permiten estimativos negativos de la fracción a y que podrían considerarse biológicamente más apropiados para describir la degradación ruminal de las fracciones alimenticias (Lavrenčič *et al.*, 1997, 1998).

En varios trabajos se han comparado algunos de estos modelos en su capacidad de estimar los parámetros de la cinética de degradación y la degradabilidad efectiva (DE). En general, de estos trabajos se desprende que no existe un modelo matemático ideal que pueda responder a todas las condiciones que se pueden hallar. Ésta es la conclusión a la que llegan Nocek y English (1986) luego de evaluar algunos modelos típicos. Por lo tanto, la elección de los modelos

matemáticos debe realizarse luego de considerar los datos obtenidos y de conocer los indicadores estándar del modelo adecuado (Broderick y Cochran 2000).

El tratamiento que tiene la mayor digestibilidad es el tratamiento 100L: 0M que tiene una digestibilidad de 71.1% en un rango de tiempo de 75 a 80 horas debido a que la cantidad de fibra cruda de la levadura es de 3.1 lo cual lleva a que la digestibilidad se mayor que en las combinaciones con masilla.

El mejor tratamiento según la grafica el tratamiento 75L: 25M ya que este según la grafica este le lleva menos tiempo degradarse y mantiene una digestibilidad mayor que los demás durante el periodo de tiempo de la prueba además que su mayor digestibilidad no varía mucho con el tratamiento 100L:0M del cual la diferencia de degradación total es de .089 y su mayor degradación es en menor tiempo.

V. CONCLUSIÓN

En base a los resultados obtenidos el tratamiento con mayor digestibilidad es el de 25 L: 75 M si solo se va a usar la combinación en la alimentación dado que este tiene una mayor digestibilidad en el periodo de 12 a 24 horas que es lo que dura el alimento en el rumen, pero se pueden combinar ingredientes que disminuyan la velocidad de paso ruminal, haciendo que los otros tratamiento logren alcanzar su pico de degradación en tal caso el tratamiento 75L: 25M sería óptimo ya que este muestra uno de los mayores % de DIVMS y tiene uno de los menores tiempos para llegar al pico de DIVMS. Además de que este tratamiento contiene una mayor cantidad de proteína que los insumos proteicos son los más costosos.

Todos los tratamientos tienen una buena digestibilidad ya que llegan arriba del 70%, desde el punto de vista de productor cualquier combinación es apta dependiendo de los insumos con que cuente para poder disminuir la velocidad de paso ruminal o si son insumos proteicos se recomendaría el uso de tratamientos con más masilla

VI. LITERATURA CITADA

- Adesogan, A.T., Givens, D.I. and Owen, E. 1998b. Prediction of the in vivo digestibility of whole crop wheat from in vitro digestibility, chemical composition, in situ rumen degradability, in vitro gas production and near infrared reflectance spectroscopy. *Animal Feed Science and Technology*, 74: 59-272.
- Aguilera, B.A. 1988. Evaluación del efecto de la suplementación de rastrojo amoniatizado sobre la cinética ruminal y digestibilidad en borregos pelibuey. Tesis de Maestría. FES-C, UNAM., México, D.F.
- Alainz, O.G. 2008. Adición de residuos de la industria cervecera al ensilaje de maíz como alternativa de forraje para ganado. Tesis de Maestría. IPN, Centro de investigación para el desarrollo integral regional,. Unidad Durango. Victoria de Durango, Dgo.2008
- Andrighetto, I., Bailoni, L., Cozzi G., Berzaghghi, P. 1993. Effects of yeast culture addition on digestion in sheep feed and high concentrate diet. *Small Ruminant Research*. 12: 27-34.
- Ángeles, C.S., Corona, G.I., Castrejón, P.F., Mendoza, M.G.d., Cobos, P.M. 1995 Cambios en la población de protozoarios y en el metabolismo ruminal utilizando dos cultivos de levaduras. Memorias. Reunión Nacional de Investigación Pecuaria. Vol. 26. Supl 2. pp.275.

- Ángeles, C. S. 2002. Fermentación ruminal, tamaño de partícula y efecto de la fibra en la alimentación de vacas lecheras. Sitio argentino de producción animal. 1-8
- Barber S. , R. Carlson, P. Cosi, M. Di Benedetto, B. Granström & K. Vagges (1989). A rule-based Italian text-to-speech system. : *Proceedings of the Eurospeech '89*, 2, 517-520, Paris.
- Bauchop, T. 1981 The anaerobic fungi in rumen fiber digestion. *Agric. Environ.* 6:339.
- Bergen, W.G. 1979 Factors affecting growth yields of microorganisms in the rumen. *Trop. Anim. Prod.* 4:13-20.
- Besong S, Jackson JA, Trammell DS, Amaral-Philips D (1996). Effect of supplemental chromium picolinate on liver triglyceride, blood metabolites, milk yield and milk composition in early-lactation cows. *J. Dairy Sci.* 79(suppl.1): 79.
- Bondi, A. A. 1989. *Nutrición Animal*. Editorial Acribia, S. A. Zaragoza, España. 546 p.
- Calsamiglia S., Castillejos, L., Busquet, M. Estrategias nutricionales para modificar la fermentación ruminal en vacuno lechero. XXI curso de especialización fedna. Madrid, 7 y 8 de Noviembre de 2005.
- Castro, M. A. 2008. Ecología del rumen. Boletín de Bioseguridad No 17. Bayer de México S.A. de C.V.

- Chaucheryras - Dyrand, F; Fonty, G.2001 Establishment of cellulolytic bacteria and development of fermentative activities in the rumen of gnotobiotically-reared lambs receiving the microbial additive *Sacharomyces cerevisiae* CNCM I-1077. *Reproduction Nutrition Development*, 41 (1):57-68.
- Church, D. C. 1974. *Fisiología digestiva y nutrición de los rumiantes*. Editorial Acribia. Zaragoza, España.
- Church, D.C. 1993. *El Rumiante. Fisiología Digestiva y Nutrición*. Ed. Acriba S.A., Zaragoza, España, pp 652.
- Church, D. C. y W. G. Pond. 1994. *Fundamentos de nutrición y alimentación de animales*. Editorial Limusa, S. A. de C. V. Grupo Noriega Editores. México. pp 438.
- Church C. D y G. W. Pond. 1998. *Fundamentos de Nutrición y Alimentación de Animales 1ª Edicion 6ª Reimpresión*. Editorial LIMUSA. México D.F. pp.46,47,51,55.
- Clancy, M.J. and Wilson, R.K. 1966. Development and application of a new chemical method for predicting the digestibility and intake of herbage samples. *Proceedings of the Xth International Grassland Congress, Helsinki*, pp. 445-453.
- Crosby, Ma. 1995. Efecto de la dosis de un cultivo de levadura (*Saccharomyces cerevisiae*) en la fermentación y en la digestibilidad ruminal en borregos. Tesis Maestría. Colegio de Postgraduados, Montecillo, Mex.

De Boever, J.L., Cottyn, B.G., Andries, J.I., Buysse, F.X. & Vanacker, J.M., 1988.

The use of a cellulase technique to predict digestibility, metabolizable and net energy of forages. *Anim. Feed Sci. Technol.* 19, 247-260.

Dawson, K.A. 1992 Current and future role of yeast culture in animal production: A review of research over the last 50 years. In: E. Lyons Ed. *Biotechnology in the Feed Industry, Proceedings of Alltech's Ninth Annual Symposium*. Nicholasville, KY. USA. P 269-291.

Dowman, M., and F. Collins. 1982. The use of enzymes to predict the digestibility of animal feeds. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 33:689-696.

Flachowsky, G., Tiroke, K., Matthey, M. 1993. Influence of yeast *Saccharomyces cerevisiae* (BIOSAF Sc 47) on ruminal flora and rumen fermentation pattern in dairy cows. *Ann Zotech.* 42: 175.

Garman, C. L., L. A. Holden and H. A. Kane. 1997. Comparison of *in vitro* dry matter digestibility of nine feedstuffs using three methods of analysis. *J Dairy Sci.*,80:260 suppl. 1.

Givens, D., A. Moss, and A. Adamson. 1993a. Influence of growth stage and season on the energy value of fresh herbage. 2. Relationships between digestibility and metabolizable energy content and various laboratory measurements. *Grass and Forage Science* 48:175-180.

González, D., Ruiz, M. E., Romero, F. ¿? todos los autores et al. 1990
Recomendaciones sobre la utilización de los métodos *in vitro*, *in situ* y

- enzimático en el estudio de la digestión de alimentos In: Ruiz, M. E., Ruiz, A. Nutrición de rumiantes: guía metodológica de investigación. 1990. p.127-140.
- Hernandez, D.R., 1999. Efecto de un cultivo de *Saccharomyces cereviceae* en consumo, digestibilidad y variables ruminales en borregos alimentados con pasto ovillo (*Dactylisglomerata*) cosechado a dos intervalos de rebrote. Tesis en Maestria en Ciencias. Colegio de Postrgraduados, Montecillo, Mex. 74.
- Hubert, J.T. 1987 Fungal additives for lactating cows. Department of animal Sci. University of Arizona, USA.
- Joblin, K.N. 1981 Isolation, enumeration and maintenance of rumen anaerobic fungi in roll tubes. *Appl. Environ.Microbiol.* 130:27-37.
- Jones, C., Thomas, C. 1987 Maintenance of strain specificity and bile tolerance when producing. In: T.P. Lyons Ed. *Biotechnology in the Feed Industry.* Alltech's. Biotechnology center. Nicholasville, KY. USA.
- Jouany, J.P. 1994 Methods of manipulating the microbial metabolism in the rumen. *Ann Zootech.* 43:49-62.
- Julier, B., Lila, M., Furstoss, V., Travers, V. and Huyghe, C. (1999b). Measurement of cell-wall digestibility in lucerne using the filter bag technique. *Anim. Feed Sci. Technol.*, 79: 239-245.
- Karma, D.N., Chaudhary, L.C., Neeta Agarwal, S.R.& Pathak, N.N. 2002. Growth performance, nutrient utilization, rumen fermentation and enzyme activities in calves fed on *Saccharomyces cerevisiae* supplemented diet. *Indian J. Animal Sci.* 72: 472

- Klopfenstein, T. J., V. E. Krause, M. J. Jones and W. Woods. 1972. Chemical treatment of low quality roughages. *J. Anim. Sci.* 35:418.
- Kotb, A.R. and T. D. Luckey. 1972. Markers in nutrition. *Nutrition abstracts and reviews.* 42: 813 - 845.
- Lee, S.S., Ha, J.K., Cheng, K.J. 2000 Influence of an anaerobic fungal culture administration on in vivo ruminal fermentation and nutrient digestion. *Animal Feed Science and Technology,* 88 (3-4):201-212.
- Lovett, D. K., L. Stack, S. Lovell, J. Callan, B. Flynn, M. Hawkins, F. P. O' Mara. 2006. Effect of feeding *Yucca schidigera* extract of performance of lactating dairy cows and ruminal fermentation parameters in steers. *Livestock Science* 102: 23-32.
- McAllister, T.A., Bae, H.d., Jones, G.A., Cheng, K.J. 1994 Microbial attachment and feed digestion in the rumen. *J. Anim. Sci,* 72:3004-3018.
- Merchen, N. R. 1993. Digestión, absorción y excreción en los rumiantes. En: D. C. Church (Ed.). *El rumiante, fisiología digestiva y nutrición.* Tomo I. Editorial Acribia, S. A. Zaragoza, España. 191 -223.
- Miazza RD, Kraft S. Yeast a growth promoter for broilers. *Abst. 10th. European Poultry Conference.* Jerusalem, Israel. p. 94.1998.
- Miller - Webster, T.; Hoover, W.H; Holt, M; Nocek, J.E. 2002 Influence of yeast culture on ruminal microbial metabolism in continuous culture. *Journal Of Dairy Science,* 85 (8):2009-2014.

- Minson, J.d. 1982 Effect of chemical composition on feed digestibility and metabolizable energy. Nutr. Abstr. Rev. series B. 52:591-615.
- Monje AR, Alberio R, Schiersmann G, Chedrese J, Carou N, Callejas SS. 1992. Male effect on the postpartum sexual activity of cows maintained on two nutritional levels. Anim Reprod Sci 29: 145-156.
- Mora, Ileana. Nutricion Animal. Ed. Universidad Estatal a distancia San Jose Costa Rica. 2007. Pp. 40-43.
- Myr, Z., Myr, P. S. 1994. Effect of addition of live Yeast (*Saccharomyces cereviceae*) growth and Carcass Quality of Steer Feed High – Forage or High-Grain Diets and on Feed Digestibility and In Situ Degradability. J. Anim. Sci. 72: 537-545.
- Phillipson, A. T. 1981. Digestion en el ruminante. En: fisiologia de los animales domesticos. H.H. Dukes y M. J. Swenson (Eds.). Aguilar editor S. A. Mexico .
- Pires, M. B. G., Freitas, E. A. G., Trindade, D. S. et al. Estabelecimento de um sistema de digestibilidad *in vitro* no laboratório da equipe de pesquisa em Nutrição Animal. Anuário Técnico do IPZFO, Porto Alegre, v. 6, p. 345-385. 1979.
- Plata, P. F., Mendoza, M.G., Barcena-Gama, Gonzalez, M. S., 1994. Effect of yeast cultura (*Saccharomyces cereviceae*) on neutral detergent fiber digestion in steer feed oat Straw based diets. Anim. Feed Sci. and Technol. 49: 203-210.

- Preston R L, Vance R D and Cahill V R 1973 Energy evaluation of brewers' grains for growing and finishing cattle. *Journal of Animal Science* 37: 194-178.
- Rodríguez C. A., y E. Valencia. 2008. *Microbiología Ruminal*. Estación Experimental Agrícola. Departamento de Agricultura Universidad de Puerto Rico. Vol :3, No 1, 2008.
- Santos, G. T., Assis, M. A., Petit, H. V. et al. 1997 Chemical composition and in situ degradability of leucaena (*Leucaena leucocephala*) and desmodium (*Desmodium ovalifolium*) submitted at two conservation forms. *J. Dairy Sci.*, Champaign, v.80, Suppl. 1, p.221.
- Satter LD, Whitlow LW, Santos KA. Supplementing protein to the dairy cow for maximum profit. In: *Proc. Distill. Feed Res. Counc.*. 1979;p. 77.
- Sing H, B., Makkar, H.P.S., Negi, S.S. 1992 The kinetics of digestion in ruminants. A review. *Indian J. Dairy Sci.* 46,3:90-99.
- Tamminga S. 1996. A review on environmental impacts of nutritional strategies in ruminants. *J Anim Sci* 74, 3112-3124. Tilley, J. M. A., and Terry R. A. 1963. A two stage technique for the in vitro digestion of forage crops. *J. Br. Grassland Soc.* 18:104-111.
- Ushida, K., Kayouli, C., Desmet, S., Jouany, J.P. 1990 Effect of defaunation on protein and fibre digestion in sheep fed ammonia-treated straw-based diets with or without maize. *Br. J. Nutr.* 64:765-775.
- Van Nevel, C.J. y DEMEYER, D.I. (1988). In: *The Rumen Microbial Ecosystem*. P.N. Hobson (Ed.). Elsevier Applied Science. London, UK. pp: 387-443.

- Van Soest, P. J. 1994. *Nutritional Ecology of the Ruminant* (2nd Ed.) . Cornell University Press, Ithaca, NY.
- Van Soest, P.J., R.H. Wine and L.A. Moore. 1966. Estimation of the true digestibility of forages by the in vitro digestion of cell walls. Proc. 10th. In Grasslands Congr., Helsinki. pp. 438-441.
- Vogel J, Borner T and Hess W (1999) Comparative analysis of splicing of the complete set of chloroplast group II introns in three higher plants mutants. *Nucleic Acids Res*, 27, 3866–3874.
- Wilman, D. and Adesogan, A. 2000. A comparison of filter bag methods with conventional tube methods of determining the in vitro digestibility of forages. *Animal Feed Science and Technology*, 84: 33-47
- Weimer, P. J. 1998. Manipulating ruminal fermentation: a microbial ecological perspective *J. Anim. Sci.* 76: 3114-3122.