

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA
ANTONIO NARRO**

DIVISIÓN DE CIENCIA ANIMAL



**EVALUACIÓN DEL COMPORTAMIENTO DE METABOLITOS EN SUERO
SANGUÍNEO DE OVINOS CON LA INCLUSIÓN EN DIETA DE NOPAL (*Opuntia
ficus-indica*) COMBINADO CON ENZIMA CELULASA**

Por:

FRANCISCO FLORES FRANCO

TESIS

Presentada como requisito parcial para obtener el grado de:

INGENIERO AGRÓNOMO ZOOTECNISTA

**Saltillo, Coahuila, México
Febrero del 2014**

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA "ANTONIO NARRO"

**EVALUACIÓN DEL COMPORTAMIENTO DE METABOLITOS EN SUERO
SANGUÍNEO DE OVINOS CON LA INCLUSIÓN EN DIETA DE NOPAL (*Opuntia
ficus-indica*) COMBINADO CON ENZIMA CELULASA**

TESIS

POR:

FRANCISCO FLORES FRANCO

Elaborada bajo la supervisión del Comité Particular de Asesoría y aprobada como
requisito parcial para obtener el grado de:

INGENIERO AGRÓNOMO ZOOTECNISTA

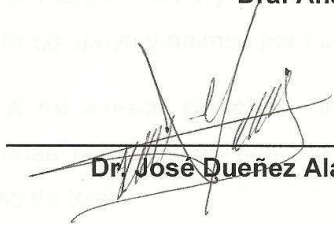
COMITÉ PARTICULAR DE ASESORÍA

ASESOR PRINCIPAL



Dra. Ana Verónica Charles Rodríguez

ASESORES:


Dr. José Dueñez Alanís
M.C. Laura Emilia Padilla González

SUPLENTE:



Dr. Alberto Guerrero Rodríguez


Dr. Ramiro López Trujillo
Coordinador de Ciencia Animal

Buenavista, Saltillo, Coahuila, México
Febrero, 2014

AGRADECIMIENTO

A dios por las bendiciones, la oportunidad de vivir y llegar con bien hasta el último segundo de vida que aún conservo, por ser la guía que necesito para llegar al objetivo y por depositar en mí la capacidad necesaria para llegar al final de esas aspiraciones en las que me aventuro. Gracias.

A mis padres Felipa de Jesús Franco Franquez y José de Jesús Flores Partida, por su inagotable e incondicional apoyo durante toda mi formación profesional, por no doblegar ante la adversidad, por sembrar los mejores principios en mí y por su enorme confianza en mí superación personal. Mamá y Papá las palabras que busco no existen, pues mi agradecimiento hacia ustedes no tiene comparación. Gracias.

A mi “alma mater” (UAAAN) por abrir sus puertas a mí y permitir la creación de un nuevo butre, es para mí un orgullo haber realizado los estudios universitarios en esta gloriosa institución. Gracias.

A mis hermanos Jesús Ernesto Flores Franco, Benito Flores Franco, Jorge Alberto Flores Franco y María de Jesús Flores Franco, por depositar su confianza en mí, por su apoyo y ánimos para continuar con nuevos caminos y aventuras.

A mi asesor principal Dra. Ana Verónica Charles Rodríguez por el apoyo y acertadas correcciones que me hizo de manera puntual para poder presentar este trabajo de tesis.

A mis asesores Dr. Alberto Guerrero Rodríguez, Dr. José Dueñez Alanís, MC. Laura Emilia Padilla González, por sus atinadas correcciones y consejos durante este proceso de elaboración de tesis.

A mis amigos de la carrera y del EIIPP: Juventino, Jesús, Mario y Bernabé; por hacer del estudio momentos de diversión, alegría y experiencias únicas.

COMPENDIO

Evaluación del comportamiento de metabolitos en suero sanguíneo de ovinos con la inclusión en dieta de nopal (*Opuntia ficus-indica*) combinado con enzima celulasa

TESIS

POR:

Francisco Flores Franco

INGENIERO AGRÓNOMO ZOOTECNISTA

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO
Buenavista, Saltillo, Coahuila, México, Febrero 2014.**

Dra. Ana Verónica Charles Rodríguez-Asesor principal

Palabras clave: nopal, enzima celulasa, metabolitos, producción, glucosa, proteínas totales, fosforo, calcio, creatinina, colesterol, urea, ovinos

Los costos de producción son afectados por concepto de alimentación en su eficiencia y rentabilidad en las unidades de producción pecuaria. La diversidad de condiciones climáticas en el país, hacen que especies forrajeras, como es el nopal (*Opuntia spp*), sean importantes alternativas en la alimentación animal en condiciones de sistemas de producción intensivo. Considerando su bajo contenido nutricional se propone el uso de aditivos que ayuden a eficientar el alimento por el animal, las enzimas exógenas de celulasa son una disyuntiva que busca una reducción en los costos de producción por concepto de alimentación. Con respecto a esto, se llevó a

cabo este proyecto de investigación en el que se utilizaron 15 borregas criollas adultas con el fin de evaluar la inclusión de dos enzimas al nopal (*Opuntia ficus-indica*) de la dieta (13% en dieta en base a MS), una enzima celulasa con estatus comercial (EC) de la marca SIGMA® y un extracto enzimático de celulasas (EU) producida en las instalaciones de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro (UAAAN) y proporcionada para este fin. Para el estudio se distribuyó el total de borregas en tres tratamientos; es decir, 5 borregas por tratamiento, donde tratamiento 1 (T1) fue el testigo, el tratamiento 2 (T2) le correspondió la EC y el tratamiento 3 (T3) contenía a la EU. La etapa de prueba consistió en alimentar a las borregas durante un periodo de 45 días, con dos servicios de alimento uno por la mañana (9:00 am) y otro por la tarde (4:00 pm), la cantidad se determinó en base al consumo de cada animal con ajustes durante el periodo dependiendo la cantidad no consumida, el alimento rechazado se retiraba y pesaba antes de servir el alimento nuevo. La aplicación de la enzima se realizaba 40 minutos antes de mezclar el nopal con el resto de los ingredientes; este se hacía asperjando con un atomizador el extracto de cada enzima directamente sobre los trozos de nopal. Se evaluaron metabolitos en suero sanguíneo (glucosa, colesterol, creatinina, proteínas totales y urea), además los minerales fosforo y calcio. Al analizar las variables de metabolitos en suero sanguíneo y minerales no hubo diferencia significativa ($P>0.05$) entre tratamientos. En conclusión, es importante señalar que la EU es competitiva aun y cuando no se obtuvo diferencia significativa entre tratamientos, ya que en igualdad de condiciones las dos enzimas en cuestión reaccionaron con la misma tendencia. Sin embargo; para las condiciones propias del experimento no se recomienda el uso estándar en dietas de las enzimas celulasas (EC y EU) ya que por su condición comercial y procesos de obtención respectivamente ambas implica un costo extra, con un efecto marginal y poco evidente, es decir; los cambios en las concentraciones de los metabolitos en el suero sanguíneo de ovinos no se les puede atribuir a la acción de las enzimas.

ABSTRACT

Production costs are affected by the concept of power in its efficiency and profitability in the livestock production units. The diversity of climatic conditions in the country, make that you species forage, such as the prickly pear (*Opuntia* spp.), are important alternatives in animal feeding under conditions of intensive production systems. Considering their low nutritional content is proposed the use of additives that help streamline the food by the animal, exogenous cellulase enzymes are a choice between seeking a reduction in production costs by concept of power. In this respect, took out this research project in which 15 sheep adult landrace were used to assess the inclusion of two enzymes to the Cactus (*Opuntia ficus-indica*) diet (13% in diet based on MS), an enzyme cellulase (EC) SIGMA® brand commercial status and an enzymatic extract of cellulase (EU) produced in the facilities of the University Autonomy Agrarian Antonio Narro (UAAAN) and provided for this purpose. For the study was circulated total of Ewe in three treatments; i.e. 5 ewe lambs for treatment, where treatment 1 (T1) witnessed, treatment 2 (T2) was EC and treatment 3 (T3) contained the us. Test stage consisted of Ewe feeding for a period of 45 days, with two services of food one morning (9:00 am) and another in the afternoon (4:00 pm), the quantity was I determined on the basis of the consumption of each animal with adjustments during the period depending on the amount of uneaten, rejected food was removed and weighed before serving new food. The application of enzyme was 40 minutes before mixing the Cactus with the rest of the ingredients; this was done by sprinkling each enzyme extract with a spray bottle directly on pieces of cactus. We assessed metabolites in blood serum (glucose, cholesterol, creatinine, total protein and urea), also the minerals phosphorus and calcium. Analyzing the metabolites in blood serum and minerals variables there was no significant difference ($P > 0.05$) among treatments. In conclusion, it is important to note that the EU is still competitive and when there was significant difference between treatments, since equal two enzymes in question reacted with the same trend. However; for the conditions of the experiment is not recommended the standard use in diets of the enzymes cellulase (EC and EU) since its commercial status and processes for obtaining both respectively implies an extra cost, with a marginal and little apparent effect, i.e.;

changes in the concentrations of metabolites in the blood serum of sheep not them can be attributed to the action of the enzymes.

Key words: cactus, cellulase enzyme, metabolite production, glucose, total protein, phosphorus, calcium, creatinine, cholesterol, urea, sheep

ÍNDICE GENERAL

	Pág.
AGRADECIMIENTO.....	ii
COMPENDIO	iv
ABSTRACT	vi
INTRODUCCIÓN	xii
1.1 Antecedentes	xii
1.2 Justificación	xiii
1.3 Objetivo general	xiv
1.4 Objetivos específicos	xiv
1.5 Hipótesis	xiv
II REVISIÓN DE LITERATURA.....	xv
2.1 Nopal.....	xv
2.1.1 Generalidades	xv
2.2 Usos del nopal	xvi
2.3 Tipos de carbohidratos.....	xvii
2.4 Enzimas	xviii
2.4.1 Tipos de enzimas.....	xix
2.4.2 Celulasas	xix
2.4.3 Mecanismo de hidrólisis enzimática.....	xix
2.5 Metabolitos sanguíneos	xxi
2.5.1 Glucosa.....	xxi
2.5.2 Urea	xxii

2.5.3 Proteínas totales	xxiii
2.5.4 Colesterol.....	xxiii
2.5.5 Creatinina	xxv
2.6 Calcio y Fosforo	xxvi
2.6.1 Generalidades	xxvi
III MATERIALES Y MÉTODOS	xxviii
3.1 Descripción del área de estudio.....	xxviii
3.2 Animales utilizados	xxviii
3.3 Tratamientos	xxviii
3.4 Instalaciones y equipo.....	xxix
3.5 Prueba de alimentación	xxix
3.6 Variables determinadas en el experimento.....	xxx
3.6.1 Determinación de los metabolitos y minerales séricos.	xxx
3.7 Análisis estadístico.....	xxxi
IV RESULTADOS Y DISCUSIÓN	xxxii
V CONCLUSIÓN.....	xxxvi
VI RESUMEN	xxxviii
VII LITERATURA CITADA.....	xxxix
VIII APÉNDICE.....	xlvii

ÍNDICE DE FIGURAS

No. De figura		Pagina
2.1	Distribución mundial del nopal	15
2.2	Principales estados productores de nopal forrajero en México	17
2.3	Mecanismo de hidrólisis enzimática de la celulosa	21
2.4	Proceso de síntesis del colesterol a partir de acetil-CoA	24

ÍNDICE DE CUADROS

No. De cuadro		Pagina
2.1	Producción de nopal forrajero en México	16
3.1	Distribución de tratamientos y repeticiones	29
3.2	Formula alimenticia para los tratamientos del experimento	30
4.1	Concentraciones de metabolitos en suero sanguíneo de ovinos criollos alimentados con una dieta a base de nopal y enzimas celulasas	32

INTRODUCCIÓN

En México, la población ovina es de 8, 405.902 cabezas, con una producción anual de 57,692 toneladas al año (SIAP-SAGARPA, 2012), esta producción no cubre las necesidades internas por lo que es necesaria la importación de productos ovinos (SAGARPA, 2005). A esta problemática se le une los altos costos de producción por concepto de alimentación en sistemas intensivos y la baja eficiencia productiva en los sistemas extensivos, donde el forraje juega un papel importante (Aguilar, 2010). Las condiciones climáticas limitan el crecimiento vegetal, especialmente de cultivos agrícolas y forrajeros. A pesar de ello, especies como el nopal (*Opuntia spp*), están muy bien adaptados y entre otros usos, juega un papel importante en la alimentación de bovinos, ovinos, caprinos y fauna silvestre (López, 2003), especialmente en época de estiaje, donde el nopal es una excelente fuente de nutrientes y agua (Abidi *et al.*, 2009; Germano *et al.*, 2003). Sin embargo tiene la desventaja de tener bajo contenido proteico, el cual va de 5 a 10% (Batista *et al.*, 2003) esto provoca una respuesta animal limitada y poco satisfactoria, con ganancias de peso que van de 20 a 60 grs/día en ovinos alimentados con nopal fresco (Ben Salem *et al.*, 2005 y Tegegne *et al.* 2007), sin embargo se reporta que una alimentación con nopal suplementado con concentrado las ganancias de peso se ven favorecidas, 90 a 110 g/día (Atti *et al.*, 2006). Estos resultados es un indicativo de que el nopal como alimento solamente funciona como ingesta de sobrevivencia, pero puede funcionar en mezcla con otros alimentos o aditivos. Es por eso que se buscan alternativas como la adición de enzimas exógenas al nopal de dieta que hagan más eficiente la disponibilidad para el animal, esta alternativa busca una reducción en los costos de producción por concepto de alimentación, por otro lado encontrar resultados favorables en el comportamiento de los metabolitos sanguíneos mejorará el uso de estos aditivos en las dietas.

1.1 Antecedentes

A pesar de que las enzimas fueron descubiertas a finales del siglo XIX y principios del siglo XX, fue hasta en la década de 1950 cuando se inició la aplicación en animales, investigadores de la Universidad del Estado de Washington demostraron que la fuente de una enzima suplementaria aumento el valor alimenticio de las dietas de pollos de

engorda basadas en cebada. En las dos décadas siguientes, la investigación sobre el uso de enzimas microbianas fue esporádica pero se hicieron importantes avances en el entendimiento de los mecanismos de acción de las enzimas y otros usos potenciales fuera de la dieta de cebada (Classen, 1991). Las enzimas exógenas han sido ampliamente utilizadas en los monogástricos, con objeto de eliminar los factores antinutritivos de los alimentos, aumentar la digestibilidad de los nutrientes, y complementar la actividad de las enzimas endógenas (Classen *et al.*, 1991; Bedford, 1993).

En el caso de los rumiantes, los primeros trabajos de investigación sobre el empleo de enzimas exógenas proceden de la década de 1960 (Burroughs *et al.*, 1960; Rovics y Ely, 1962; Rust *et al.*, 1965). La variabilidad de los resultados obtenidos, unido a las elevadas dosis y costos de producción de las enzimas, hicieron desistir en su empleo, actualmente las enzimas exógenas se han tratado de establecer como un aditivo estándar de la industria de la alimentación de rumiantes, trabajos recientes han demostrado así que la suplementación con enzimas exógenas (celulasas y xilanasas) puede mejorar la digestibilidad ruminal y aumentar la producción (Yang *et al.*, 1999). En años más recientes se han realizado estudios en los cuales se utilizan extractos de enzimas exógenas e incluidas al nopal de dieta, encontrando resultados favorables en algunas variables medidas como los ácidos grasos volátiles y nitrógeno amoniacal (Romo *et al.*, 2006).

1.2 Justificación

El alimento es el principal costo de producción en los sistemas de producción actuales, los costos de la alimentación representan más del 50% de los costos de producción de carne, leche y huevo. La disponibilidad de recursos para la alimentación animal es cada vez menor que la demanda de satisfactores para la humanidad además el desvío de cereales y otros cultivos hacia la producción de biocombustibles está generando una competencia desleal para la alimentación animal (SAGARPA, 2012). Es por eso que se propone la utilización de materiales alternativos en la alimentación animal como las el nopal apoyados en el uso de enzimas exógenas en el alimento de los animales, con lo que se pretende aumentar la disponibilidad y la utilización de

ciertos nutrientes en los alimentos fibrosos, hacer posible el uso de ingredientes de menor calidad, se traduce, por supuesto, en costos menores de producción.

1.3 Objetivo general

Conocer el aporte que tiene la aplicación de un nuevo producto enzimático base de celulasas en la formación de metabolitos en suero sanguíneo de ovinos.

1.4 Objetivos específicos

- Evaluar y desarrollar tecnologías conducentes a la incorporación de aditivos a los animales de interés zootécnico.
- Fomentar el desarrollo y uso de innovaciones tecnológicas relacionadas con la alimentación y gestión de recursos alimenticios para ovinos.

1.5 Hipótesis

Ho: La producción de metabolitos (glucosa, colesterol, creatinina, proteínas totales, urea) y minerales fosforo y calcio mejoran su comportamiento en suero sanguíneo de ovinos con la inclusión de enzima celulasa en el nopal (*Opuntia ficus-indica*) de la dieta diaria de ovinos.

Ha: La producción de metabolitos (glucosa, colesterol, creatinina, proteínas totales, urea, fosforo y calcio) no mostrará cambios significativos en suero sanguíneo de ovinos con la inclusión de enzimas celulasas en el nopal (*Opuntia ficus-indica*) de la dieta diaria de ovinos.

II REVISIÓN DE LITERATURA

2.1 Nopal

2.1.1 Generalidades

Los nopales son originarios de América tropical y subtropical. Hoy en día se les puede encontrar en todos los continentes, en una gran variedad de condiciones agroclimáticas, en forma silvestre o cultivada (figura 2.1).



Figura 2.1 Distribución mundial del nopal. Fuente: Boletín de Servicios Agrícolas de la FAO No. 162 “Utilización Agroindustrial del Nopal”, Roma 2006.

Los nopales pertenecen al género *Opuntia*, de la familia de las Cactáceas. Se han descrito hasta la fecha 125 géneros y 2,000 especies, de acuerdo con el Instituto Nacional de Ecología (INE). Son plantas, suculentas arborescentes, arbustivas o rastreras. México cuenta con más de 100 especies del género *Opuntia*, y en las zonas semiáridas existe la variación más amplia, por lo que algunos botánicos lo consideran como el centro de origen de los nopales (Instituto Nacional de Ecología, 2011). Las plantas del género *Opuntia* son nativas de varios ambientes, desde zonas áridas al nivel del mar hasta territorios de gran altura como los Andes del Perú; desde regiones tropicales de México donde las temperaturas están siempre por sobre los 5 °C a áreas de Canadá que en el invierno llegan a -40 °C (Nobel, 1999). Se conocen 258 especies del género *Opuntia* (López, 2010), sin embargo, hay solo 10 a 12 especies utilizadas

por el hombre, la más ampliamente cultivada en México y en distintas partes del mundo es la *Opuntia ficus-indica*.

2.2 Usos del nopal

El nopal tiene fines y usos muy diversos, en México las variantes con mayor importancia son la producción de nopal verdura o nopalito, la obtención de tuna y nopal forrajero. El nopalito ocupa alrededor del 2.2% de la superficie sembrada de hortalizas en México. Entre este grupo de 56 cultivos, el nopalito ocupa la cuarta posición en importancia respecto al volumen producido (SIAP-SAGARPA, 2009). La tuna ocupa aproximadamente el 3.8% de la superficie sembrada de frutas en México. Entre este grupo de 64 cultivos, obtuvo el doceavo lugar en importancia respecto al volumen, ya que representó el 2.0% del total (SIAP-SAGARPA, 2009). El nopal forrajero es usado como complemento con alimentos fibrosos en la alimentación de los animales, ya sea en pastoreo o silo, su uso como forraje es estratégico en zonas áridas y semiáridas. El cultivo de nopal como forraje ocupa aproximadamente el 0.4% de la superficie sembrada de forrajes en México (SIAP-SAGARPA, 2009). La expectativa es de un enorme crecimiento en la producción y rendimiento por los siguientes años, de acuerdo a la tendencia mostrada en el cuadro 2.1.

Cuadro 2.1 Producción de nopal forrajero en México (SAGARPA).

Año	Superficie (Miles de Ha)		Produc- ción (Miles de Ton)	Rendimiento (Ton/Ha)			Precio medio rural (\$/Ton)	Valor prod. (Millo- nes \$)
	Sembr.	Cosech.		Riego (R)	Temp. (T)	R+T		
2000	1.5	0.7	15.1	40.8	20.1	20.6	772.9	11.7
2001	1.8	1.1	16.4	45.4	14.7	15.1	333.0	5.5
2002	2.2	2.2	34.0	27.0	15.2	15.5	229.8	7.8
2003	9.9	2.2	46.6	103.9	18.7	20.8	343.5	16.0
2004	10.0	3.5	83.1	112.7	21.8	23.5	370.3	30.8
2005	3.9	2.2	77.1	131.4	31.5	34.7	240.4	18.5
2006	4.8	4.0	130.0	207.2	29.9	32.5	302.3	39.3
2007	11.2	4.2	158.1	170.6	35.4	37.4	287.4	45.4
2008	14.4	4.3	148.2	148.0	32.7	34.4	298.0	44.2
2009	18.1	4.5	118.3	141.0	24.5	26.1	339.0	40.1

Siete entidades del país reportan producción de nopal forrajero, aunque sólo tres de ellas dominan la producción, representando el 99.4% del volumen producido y el

99.3% del valor generado y son: Zacatecas, Coahuila y Aguascalientes. Los otros cuatro estados productores son: Chihuahua, Jalisco, Guanajuato y Sonora. Figura 2.2.

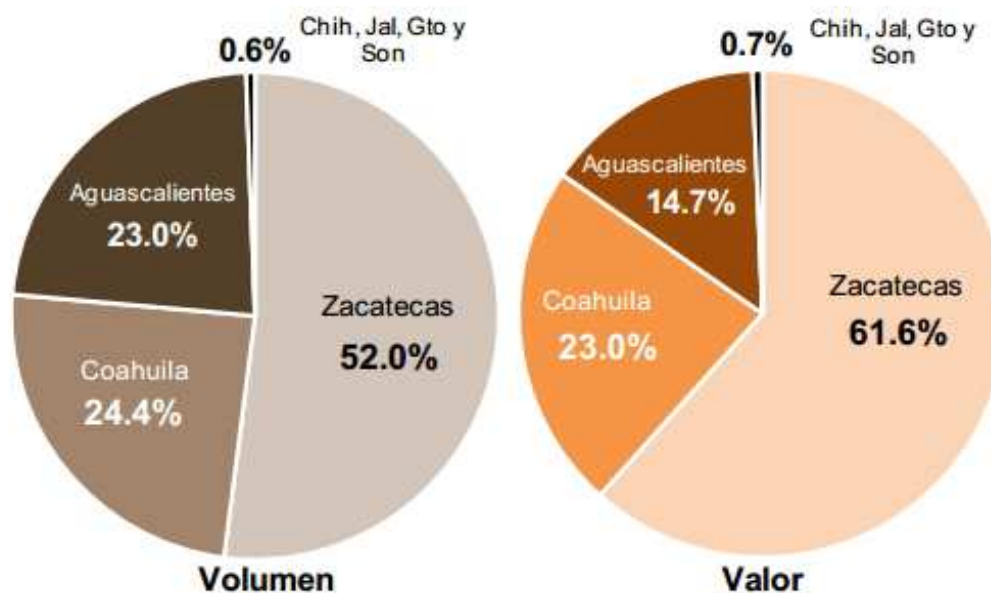


Figura 2.2 Principales estados productores de nopal forrajero en México (SIAP-SAGARPA, 2009).

2.3 Tipos de carbohidratos

Los carbohidratos presentes en los alimentos se encuentran en formas físicas y químicas muy distintas lo que afecta a la fermentación de los mismos. Los carbohidratos se pueden clasificar en tres grandes grupos de acuerdo a su ubicación/función en la planta; de contenido celular, de almacenamiento y estructurales (Regueiro, M y Van Lier., 2008). En el contenido celular se encuentran azúcares solubles y la pectina que está asociada a la membrana celular. Estos carbohidratos son de fácil digestión porque son de fácil acceso para los microorganismos y su estructura es relativamente sencilla. El carbohidrato de almacenamiento, o azúcar de reserva de las plantas, es el almidón. Este también es considerado de fácil digestión una vez abierto el grano. La celulosa y la hemicelulosa son los carbohidratos estructurales de la planta, constituyen las paredes celulares y corresponden a la fracción fibrosa del alimento. A estos compuestos se asocia la lignina (que no es un carbohidrato) y que

dificulta la digestión de la fibra. Por este motivo y por la forma que toman las moléculas de celulosa y hemicelulosa, estos carbohidratos son considerados de difícil digestión. (Regueiro, M y Van Lier., 2008).

La celulosa está compuesta de cadenas largas de moléculas de D-glucosa unidas por enlaces β (1-4) que, a su vez, se agrupan en estructuras superiores de gran cristalinidad, lo que dificulta su hidrólisis y conversión a azúcares fermentables. La celulosa tiene una estructura lineal o fibrosa, en la que se establecen múltiples puentes de hidrógeno entre los grupos carboxilo de distintas cadenas yuxtapuestas de glucosa, haciéndolas impenetrables al agua, lo que hace que sea insoluble en agua, y originando fibras compactas que constituyen la pared celular de las células vegetales. Una vez que se producen los azúcares simples, pueden fermentarse sin dificultad (Quintero, 2008).

Los carbohidratos estructurales y los de almacenamiento son polímeros de glucosa. Una diferencia importante entre los mismos es el tipo de enlace entre las moléculas de glucosa. En el almidón las moléculas de glucosa se unen por enlaces α 1-4, mientras en la celulosa y la hemicelulosa las glucosas se unen por enlaces β 1-4. La importancia de esto está en que los vertebrados sólo tienen enzimas para romper los enlaces α 1-4, por lo que se desprende que los animales (y el hombre) no poseen enzimas propias del organismo que puedan digerir celulosa ni hemicelulosa. Estos carbohidratos sólo pueden ser digeridos con la ayuda de enzimas de origen microbiano, y éste es el fundamento de la simbiosis entre el rumiante y los microorganismos en su rumen (Regueiro y Van Lier., 2008).

2.4 Enzimas

Virtualmente todas las reacciones en los seres vivos se llevan a cabo por enzimas, que son las proteínas que catalizan a las reacciones químicas, incrementando la velocidad a las cuales estas reacciones de manera natural ocurren, en el proceso las enzimas no resultan modificadas, es decir, el estado inicial de la enzima es igual al final.

A pesar de la inmensa variedad de reacciones que son energéticamente posibles en los seres vivos, las enzimas conducen a los reactivos, a menudo denominados sustratos, en las vías metabólicas de los seres vivos. Su nombre proviene del griego

ensymo (dentro de la levadura). Las enzimas son proteínas creadas en las células de las plantas, animales y microorganismos. La vida como la conocemos no podría existir sin las enzimas, desde la digestión de los alimentos, pasando por la construcción de las células y hasta la transmisión de señales del sistema nervioso, las enzimas son parte esencial de las funciones vitales (Vázquez, 2003).

2.4.1 Tipos de enzimas

Las enzimas de acuerdo a su complejidad se clasifican en simples y conjugadas (Ovando, 2005) y por la actividad que realizan sobre el sustrato estas se clasifican en hidrolasas, isomerasas, ligasas, liasas, oxidoreductasas y transferasas (Marín, 2007).

2.4.2 Celulasas

La celulasa es una glicosil hidrolasa, producida por hongos y bacterias, así como también por algunos animales. El principal componente estructural de los vegetales es la celulosa, la celulosa es un polisacárido formado por unidades de anhidro glucosa, las cuales se mantienen unidas mediante enlaces β -1,4 glucosídicos. Pero además, la configuración β le permite a la celulosa formar cadenas largas y lineales, las cuales no se presentan aisladas sino unidas entre sí mediante enlaces de hidrógeno intramolecular formando una estructura supramolecular cristalina y organizada, resistente a la hidrólisis (Chou *et al.* 1981; Fan *et al.* 1982; Ljungdahl & Eriksson 1985).

La aplicación de enzimas celulasas o preparados con actividad enzimática múltiple (celulasa, hemicelulasa y pectinasa) resulta de mucha importancia debido a su efecto sinérgico, por el potencial que tienen sobre la hidrólisis de los componentes estructurales de la pared celular de los vegetales (Sreenath *et al.* 1987; Sreenath *et al.* 1995; Chauhan *et al.* 2004).

2.4.3 Mecanismo de hidrólisis enzimática

La acción enzimática para llevar a cabo la hidrólisis de la celulosa implica la operación secuencial y la acción sinérgica de un grupo de celulasas, que presentan diferentes sitios de enlace, debido a la naturaleza compleja de la molécula de celulosa

(Lee, 1997). El sistema de celulasa típico incluye tres tipos de enzimas: la endo- β -1,4-glucanasa (Cx) (1,4- β -D-glucan glucanohidrolasa E.C.3.2.1.4), la exo- β -1,4-glucanasa (C1) (1,4- β -D glucan celobiohidrolasa E.C.3.2.1.91) y la β -1,4- glucosidasa (celobiasa) (Cb) (β -D-glucósido glucohidrolasa E.C.3.2.1.21) (Ladisich *et al.* 1983; Bataille & Toussaint 1985; Marsden & Gray 1986; Lee, 1997; Hahn-Hägerdal & Palmqvist, 2000).

El mecanismo propuesto en la literatura para la degradación de la celulosa puede resumirse en tres etapas: Primero la endo β -1,4-glucanasa actúa al azar sobre los enlaces β -1,4 glucosídicos internos presentes entre las unidades de glucosa que forman la molécula de la celulosa, y convierte las cadenas largas a oligosacáridos, los cuales mantienen la configuración β de su estructura. La acción de esta enzima es sobre las regiones amorfas de la molécula de celulosa o sobre la superficie de las microfibrillas, y tiene como resultado la disminución de la longitud de la cadena de celulosa y la creación de nuevos extremos reactivos que sirven de sustrato para la posterior acción de C1 (Ryu & Mandels 1980; Chou *et al.*, 1981; Philippidis & Smith 1995; Lee 1997). En la segunda etapa actúa la exo β -1,4- glucanasa, la cual es una enzima que corta la cadena 1,4 β -D-glucano a partir del extremo no reductor de la molécula de celulosa y de las celodextrinas, lo que provoca la remoción de unidades de celobiosa o glucosa (Ryu & Mandels 1980; Marsden & Gray 1986; Philippidis & Smith 1995; Bhat & Bhat 1997; Lee 1997). Ambas enzimas endoglucanasa y exoglucanasa son inhibidas por uno de los productos de la hidrólisis enzimática, la celobiosa, lo que disminuye la eficiencia de la hidrólisis (Lee, 1997; Hahn-Hägerdal & Palmqvist 2000). Una vez degradada las zonas amorfas de la celulosa, tiene lugar la tercera etapa de la hidrólisis, en donde la región cristalina comienza a ser hidrolizada, como resultado de la acción sinérgica de la endoglucanasa y la exoglucanasa (Beldman *et al.* 1988).

Finalmente, una etapa que limita la degradación de la celulosa es la hidrólisis de la celobiosa a glucosa mediante la acción de la β -1,4-glucosidasa Cb, porque las glucanasas son inhibidas por la celobiosa (Ladisich *et al.* 1983; Ljungdahl & Eriksson 1985; Philippidis & Smith 1995; Lee 1997), (figura 2.3).

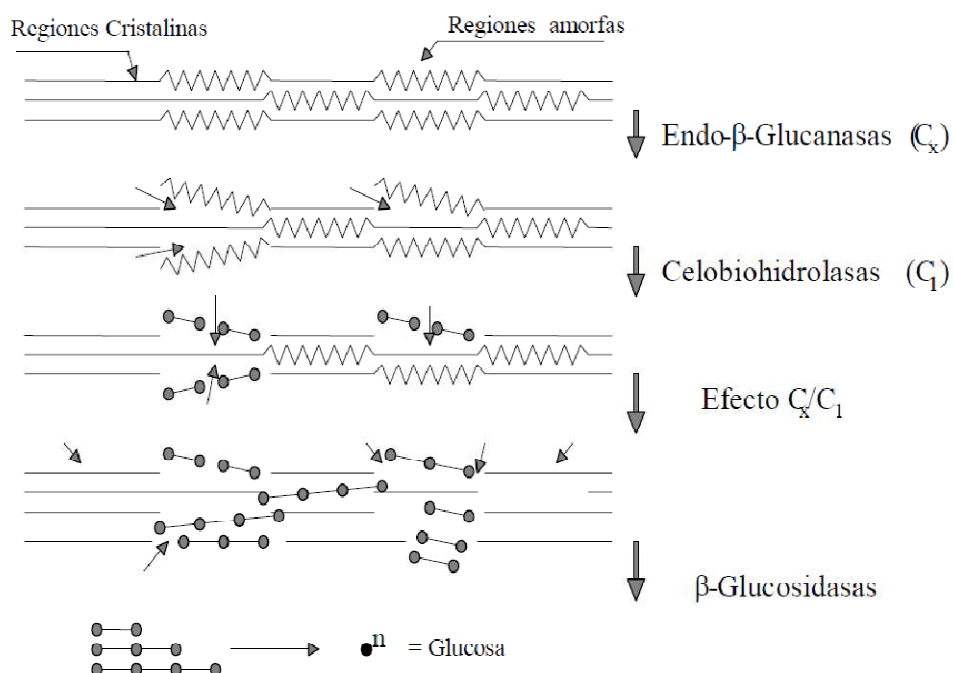


Figura 2.3 Mecanismo de hidrólisis enzimática de la celulosa (Torres *et al.*, 2009).

2.5 Metabolitos sanguíneos

Se conoce como metabolito a cualquier sustancia o molécula que se genera a lo largo del metabolismo de otra sustancia, (Medical Dictionary, 2011).

Con la determinación de metabolitos sanguíneos puede ser posible predecir el estado nutricional del animal (Roberts *et al.*, 1997), puesto que la concentración de nutrientes en el plasma aporta información sobre el metabolismo del animal (Rook, 1983).

2.5.1 Glucosa

La glucosa es el único azúcar que se encuentra en la sangre de los mamíferos, fuente principal de energía de todas las células del organismo, los tejidos que utilizan mayor cantidad de glucosa son los músculos y el cerebro (Bradley, 1969).

Las concentraciones de glucosa en sangre se mantienen en un rango relativamente estrecho debido a factores como la toma y expulsión hepática y renal,

eliminación por tejidos periféricos, influencia de las hormonas, etc. Siendo los niveles normales de glucosa en suero sanguíneos de ovinos 50 a 80 mg/dl. (Kaneko, 1980). Después de la ingesta, gran cantidad de glucosa presente en la sangre se absorbe en el intestino delgado (como producto final de la digestión de los carbohidratos) y se traslada para almacenarse como glicógeno en el hígado y músculos. Algunas veces la glucosa se libera de los tejidos para mantener una concentración plasmática suficiente. Esta glucosa que mantiene los niveles proviene de la conversión del glicógeno hepático (glicólisis) y de fuentes no carbohidratadas (por gluconeogénesis hepática) (Bus, 1999).

2.5.2 Urea

La urea es un compuesto orgánico relativamente simple producido por los mamíferos en el hígado como producto final del catabolismo de las proteínas. En una de las sustancias más difusibles en el cuerpo y se encuentra en todos los líquidos del cuerpo. Es relativamente atóxica en cantidades moderadas, ya que en concentraciones altas desnaturaliza proteínas con la formación de productos tóxicos. Se produce en hígado por fases sucesivas de desaminación de aminoácidos, formación de amoníaco, incorporación de este amoníaco en el ciclo de Krebs con la resultante formación de urea se elimina principalmente por los riñones, pero una porción de ella por la piel, sobre todo en los animales que sudan (Guild, 1959).

La producción de urea puede ser el resultado de la movilización de proteínas corporales para suplir las necesidades de glucosa y/o de la absorción elevada de amonio proveniente del rumen. Existen factores metabólicos que reducen la síntesis de la urea, como es el caso de la excesiva acumulación de grasas en el hígado, producto de la movilización de tejido adiposo; bajo esta condición, el amonio probablemente tomaría la ruta del glutamato y la glutamina incrementando la excreción de amonio vía renal. Al parecer esta vía de excreción también es utilizada cuando se incrementa la acidosis metabólica, ya que se presenta una mayor movilización de proteínas corporales incrementándose la síntesis de glutamina. (Correa *et al.*, 2004).

La cifra de urea está condicionada por la ingestión proteica y por el aumento del catabolismo, como en la fiebre y el estrés los valores reportados para ovejas son 15 a

50 mg/dl (Kaneko, 1980). Las concentraciones de urea sanguínea aumenta en los casos en los que existe disminución en la reabsorción tubular (deshidrataciones, falta de aporte hídrico, shock hipovolemico), disfunción renal, también puede ser el resultado de obstrucciones en las vías urinarias como en el caso de cálculos y tumores (González de Buitrago *et al.*, 1998).

2.5.3 Proteínas totales

Las proteínas del plasma juegan un papel importante en el mantenimiento de la presión osmótica del coloide a la vez que son una fuente de aminoácidos. Las proteínas también fijan y transportan una gran variedad de sustancias incluidos lípidos, ácidos grasos, sustancias similares a los lípidos, cobre, hierro y hemoglobina (Muntifering, 1985).

Mantener la suplementación de rumiantes con proteína y/o la energía, o ambos son requeridos a menudo para sostener los niveles deseados de producción. La suplementación de proteína ha sido demostrada para incrementar el peso y la condición corporal (Clanton y Zimmerman, 1970; Rusche *et al.*, 1993, Beaty *et al.*, 1994) y el consumo de alimento y la digestibilidad (Kartchner, 1980; Köster *et al.*, 1996). A diferencia de la energía y algunos minerales, las proteínas no pueden ser almacenadas en el cuerpo del animal, por eso se requiere de constante suplementación (Church, 1988). Prolongadas deficiencias de proteína retardan el desarrollo fetal baja el peso al nacer, afecta el desarrollo de los animales y decrece la producción láctea (N.R.C., 1981). Los requerimientos de proteína para los diferentes estados fisiológicos de las ovejas según la N.R.C. (1981) son: mantenimiento; la estimación media es de 2.82grs PD ò 4.15 g PT/kg0.75, con un promedio de digestibilidad de 68% para la proteína total. Crecimiento: la media es de 0.195g PD ò 0.284g PT/g ganancia. Las concentraciones normales reportadas de proteínas totales para ovinos son 6.0 - 7.9 g/dl (Kaneko, 1980).

2.5.4 Colesterol

El colesterol es el esteroide más abundante en los tejidos animales. Es un derivado del ciclopentanoperhidrofenantreno, siendo el hígado el principal lugar de síntesis. Este esteroide se sintetiza principalmente en el hígado, los intestinos y la piel (Rawn, 1989).

Así como sucede con la totalidad de los lípidos en plasma, el colesterol se encuentra asociado con proteínas formando complejos lipoproteicos que aseguran su transporte. Su catabolismo incluye la excreción como esteroides en la bilis y conversión en ácidos biliares, la producción de hormonas esteroideas, el papel como precursor de la vitamina D₃ y, en condiciones patológicas, ciertos depósitos como cálculos de colesterol en canalículos biliares y placas que contienen colesterol en arterias. Los lípidos sanguíneos se transportan como lipoproteínas, que varían desde densidades muy bajas (VLDL), tales como quilomicrones hasta las de muy alta densidad (HDL). La densidad aumenta a medida que la proporción de proteínas en el complejo aumenta y a medida que los lípidos disminuyen (Montgomery *et al.*, 1993). Las hormonas tiroideas actúan como reguladores del nivel de colesterol en plasma sanguíneo, siendo un efecto importante la tendencia de estas hormonas a disminuir el nivel en plasma, por un lado hay un aumento en la absorción celular de las lipoproteínas de baja densidad (LDL) con las moléculas de colesterol, y por otro lado incrementa la degradación de colesterol y las lipoproteínas de baja densidad (LDL) (Aranda *et al.*, 2002, citado por Guerrero, 2010). El proceso de síntesis del colesterol inicia a partir de acetil-CoA, para dar como resultado final la formación del colesterol, (figura 2.4).

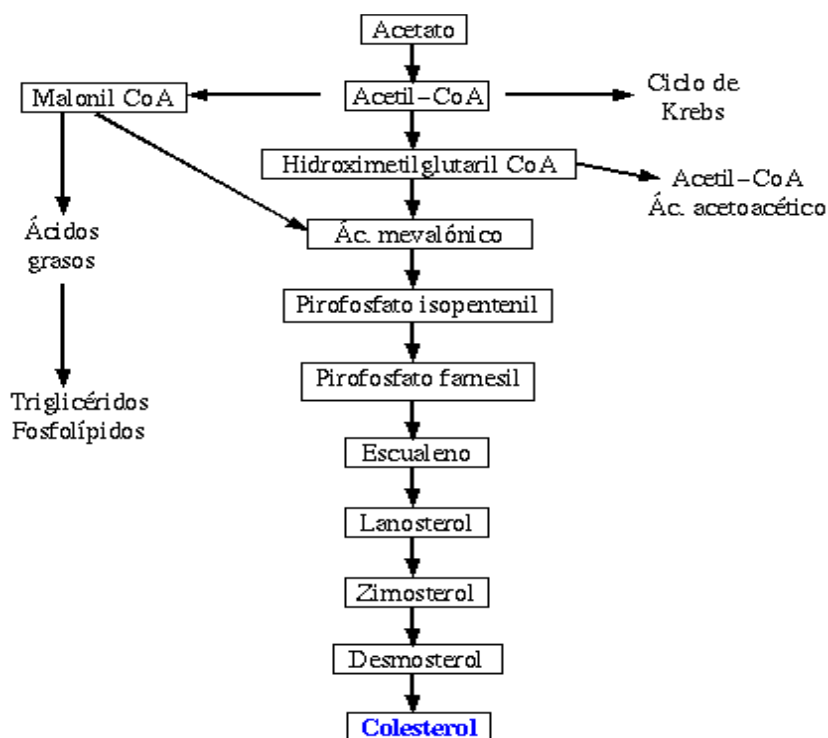


Figura 2.4 Proceso de síntesis del colesterol a partir de acetil-CoA (Aranda *et al.*, 2002).

Los niveles normales en suero sanguíneo para ovinos son los siguientes: 44.1-90.1 mg/dl (Kaneko, 1980).

2.5.5 Creatinina

La creatinina es el producto final de catabolismo de la creatina que se encuentra en los tejidos musculares del organismo. La creatina se forma a partir de arginina y glicina en un proceso de dos pasos que tiene lugar en el páncreas, riñones e intestino delgado (primer paso) y en el hígado (segundo paso). La creatina circula en la sangre y es tomada por el músculo donde almacena energía y se convierte en la enzima creatina quinasa (CK), denominada también fosfocreatina quinasa (CPK), presente en el tejido muscular se utiliza como un indicador de daño muscular y no se correlaciona directamente con la función renal. El compartimiento de creatina a partir de la cual se libera ésta depende de la masa muscular total, por este motivo, en situaciones de desgaste muscular u otras enfermedades relacionadas se producen menos creatinina, y a la inversa, el ejercicio prolongado intenso puede incrementar los niveles de creatinina (Andrews *et al.*, 1998).

La creatinina es una sustancia muy difusible y distribuida de manera uniforme en el agua corporal. Se elimina del plasma aproximadamente en la tasa de filtración glomerular. Al estudiar la excreción de creatinina, tiene valor el hecho de que los niveles séricos de creatinina casi no sean afectados por la creatinina exógena de los alimentos por la edad, el sexo, o la dieta. Por tanto, los niveles elevados solamente se presentan cuando se altera la función renal (Leibholz, 1965).

La medición de los niveles de creatinina sérica proporciona la misma información para el diagnóstico y pronóstico de la función renal que la obtenida por la medición del nitrógeno ureico (Malherbe, 1963).

La creatinina es depurada por el riñón en la cuantía aproximada de la filtración por el glomérulo mientras que la urea lo es aproximadamente a 60% de la tasa de filtración glomerular en virtud de su reabsorción por los túbulos.

Aunque la creatinina refleja más exactamente la funcionalidad renal que la Urea (ya que no hay reabsorción), no provee información acerca de otros tipos de procesos y está sujeta a interferencias en la medición. Por esto es aconsejable estimar la concentración de creatinina en conjunto con la de la urea, o cuando se halle un aumento del nivel de urea. Un aumento del nivel de creatina con un valor normal de urea puede producirse en animales con disminución de la funcionalidad renal que reciban dietas bajas en proteína 1.2-1.9 mg/dl. Los niveles séricos normales de creatinina son 0.9-2.0 mg/dl (Kaneko, 1980).

2.6 Calcio y Fosforo

2.6.1 Generalidades

Más del 70% de las cenizas del cuerpo consisten en Ca y PO₄. Más del 99% del total de Ca, y 80-85% del P están contenidos en el esqueleto y dientes. La menor proporción presente en los fluidos corporales juega un rol extremadamente importante en el mantenimiento de las funciones corporales. El Ca contenido en la dieta *per se* determinaría la cantidad absorbida desde el tracto gastrointestinal, y el nivel de Ca sérico tiende a aumentar o disminuir con el nivel de Ca en la dieta, en ovinos (De Luca, 2008).

La absorción de Ca es pasiva en parte “adaptativa”, es decir, en crisis hipocalcémicas se pone en juego una secuencia de eventos desencadenados por la acción de la Vitamina D activa o 17 OH – Colecalciferol la cual eleva la síntesis a nivel intestinal de una proteína transportadora de Ca denominada PB-Ca esta toma el elemento de la luz intestinal volcándola al torrente circulatorio. La formación de compuestos insolubles a nivel intestinal reduce la absorción de Ca. Se demostró que el oxalato puede reducir la absorción del mineral formando oxalato de Ca insoluble que se pierde en heces. En rumiantes el oxalato se descompone por acción microbiana. La degradación del oxalato puede resultar en alcalosis, entonces, indirectamente afecta el metabolismo del Ca. Algunos subproductos como la remolacha forrajera y la alfalfa en ciertos momentos de maduración contienen más del 7% de oxalato de Ca. Es lógico suponer que a un pH intestinal bajo aumenta la proporción de CaHPO₄ soluble y se

incrementaría su disponibilidad; al contrario, al aumentar el pH se forma $(\text{PO}_4)_2\text{Ca}_2$ insoluble y la proporción de Ca absorbible disminuye (De Luca -Burnet Laboratorios S.A., 2008). Se ha reportado niveles séricos normales de calcio en ovinos que fluctúan entre 8-12 mg/dl (Hecker, 1983).

El fósforo tiene una función importante en el metabolismo energético a través del fosfato de alta energía del ATP, y como constituyente de los ácidos nucleicos, es esencial para la división y crecimiento celular. Los fosfolípidos participan como componentes de las lipoproteínas de las membranas celulares y en el transporte de los ácidos grasos en todo el organismo (McDonald *et al.*, 1995). Los niveles séricos de fósforo en ovinos son los siguientes: 3-6 mg/dl (Hecker, 1983).

III MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 Descripción del área de estudio

El presente trabajo se realizó en los corrales de evaluación y estudio, propiedad de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro y ubicados en las instalaciones que ocupa la unidad metabólica, en el campus de la misma universidad, ubicada en la calzada Antonio Narro # 1923, Buenavista Saltillo Coahuila México. Las coordenadas geográficas son 25° 21' 8.80" latitud norte y 101° 2' 6.16" longitud oeste. Con una altura de 1780 msnm. Su tipo de clima es BS1hwx (e') según Koppen modificado por García (1973). La precipitación media anual es de 298.5 mm y la temperatura media anual es de 14.8 °C.

3.2 Animales utilizados

Se utilizaron 15 ovinos hembras adultas de un 1 a 5 años de edad, con peso promedio de 29.8 kg. Se consideran borregas criolla, todas provenientes del ejido Buñuelos el cual se encuentra ubicado al sur de Coahuila, tiene una altitud de 1953 metros sobre el nivel del mar, las coordenadas geográficas son 23°03'01'' latitud Norte y 101°10'59'' longitud Oeste.

3.3 Tratamientos

En el experimento se evaluaron tres tratamientos con cinco repeticiones, en el primer tratamiento se evaluó el comportamiento de metabolitos sin incluir alguna enzima, llamándolo testigo (T1, testigo), al efecto de la enzima comercial se le asignó el segundo tratamiento (T2, EC) y el extracto enzimático producido en la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro se evaluó con el tratamiento tres (T3, EU), los animales sometidos a experimento se alimentaron con una dieta a base de nopal adicionando o no enzimas, dependiendo el tratamiento. La aplicación de la enzima se realizaba 40 minutos antes de mezclar el nopal con el resto de los ingredientes para T2 y T3, este se hacía asperjando con un atomizador el extracto de cada enzima directamente sobre los trozos de nopal (cuadro 3.1).

Cuadro 3.1 Distribución de tratamientos y repeticiones

T1					T2					T3				
R1	R2	R3	R4	R5	R1	R2	R3	R4	R5	R1	R2	R3	R4	R5
Testigo					E. comercial					E. uaaan				

3.4 Instalaciones y equipo

El lugar de prueba cuenta con corraletas individuales de 2x2 m. construido de barras de acero y maya ciclónica, cada corraleta se acondiciono con bebederos y comederos de plástico. Además existe una red de tuberías para proveer agua a cada corraleta de forma individual. El espacio cuenta con techado completo de lámina, piso de concreto y tierra. Dentro del equipo se puede enlistar dos básculas para especies menores e ingredientes alimenticios con capacidad de 500 kg y 10 kg respectivamente.

3.5 Prueba de alimentación

La etapa de prueba consistió en alimentar a las borregas durante un periodo de 45 días, con dos servicios de alimento uno por la mañana (9:00 am) y otro por la tarde (4:00 pm), la cantidad se determinó en base al consumo de cada animal con ajustes durante el periodo dependiendo la cantidad no consumida, el alimento rechazado se retiraba y pesaba antes de servir el alimento nuevo (cuadro 3.2).

Cuadro 3.2 Formula alimenticia para los tres tratamientos del experimento. La dieta fue formulada en base al contenido nutricional de las tablas del NRC (2000).

INGREDIENTE	% DE INCLUSIÓN	% MS
Avena (Forraje)	17	91
Nopal	13	7.6
Maíz	24	88
Sorgo	24	90
Harinolina	10	91
Soya	5.8	89
Calcio	0.5	0
Melaza	5.7	75
Total	100	

3.6 Variables determinadas en el experimento

La prueba tiene como fin determinar las variaciones de metabolitos y minerales en suero sanguíneo, para esto se tomaron en consideración los siguientes: glucosa, colesterol, creatinina, proteínas totales, urea y los minerales; fosforo y calcio.

3.6.1 Determinación de los metabolitos y minerales séricos.

Para realizar los análisis indicados se extrajo una muestra de sangre de cada uno de los ovinos sujetos a prueba para determinar los metabolitos sanguíneos, estas muestras fueron obtenidas al finalizar el experimento. Las muestras se extrajeron de la vena yugular ubicada en el cuello de los animales, se recolectaron en tubos vacutainer de 10 ml (un tubo por animal), con vacío y sin anticoagulante, la sangre se extrajo para posteriormente dejar reposar en un refrigerador a una temperatura de 4⁰C, para

después trasladarlas al laboratorio, donde se procesaron en una centrífuga Eppendorf 5810R, a 3500 rpm, durante 15 min., a 12 °C. Posteriormente, se separó el suero por medio de decantación y se almacenó para su análisis a -20 °C, previamente identificados con fecha y número del tratamiento y repetición.

Para cada muestra se utilizaron las técnicas propuestas por los laboratorios RANDOX, y WIENER LAB. Se utilizó la espectroscopía óptica (espectrofotómetro Thermo Scientific Genesis 20) y un juego de reactivos SERA-PAK® plus.

3.7 Análisis estadístico

Los datos obtenidos de las variables: Glucosa, urea, creatinina, proteínas totales, colesterol, fosforo y calcio se sometieron a un análisis de varianza bajo un diseño estadístico de bloques completamente al azar, realizando los bloques por edad y peso. Todas las variables fueron analizadas utilizando la prueba de Tukey mediante el Minitab 16 Statistical Software.

IV RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El cuadro 4.1 muestra los resultados obtenidos del programa estadístico, para todas las variables analizadas en el experimento, en el que no se encontró diferencia significativa entre tratamientos.

Cuadro 4.1 Concentración de metabolitos sanguíneos de ovinos criollos alimentados con una dieta a base de nopal y enzima celulasa.

Variable	Tratamiento (*T)		
	1	2	3
Glucosa	39.1 ^a	28.9 ^a	37.3 ^a
Urea	10.7 ^a	21.8 ^a	26.2 ^a
Proteínas totales	34.4 ^a	37.7 ^a	41.3 ^a
Colesterol	160.0 ^a	116.4 ^a	188.6 ^a
Creatinina	9.1 ^a	8.4 ^a	6.3 ^a
Calcio	8.8 ^a	7.8 ^a	11.1 ^a
Fosforo	2.5 ^a	1.7 ^a	2.2 ^a

*T1 testigo *T2 E. Comercial *T3 E. uaaan

**Los valores medios que no comparten una letra igual entre columnas son significativamente diferentes.

Estadísticamente en el experimento no existe diferencia significativa entre las variables (glucosa, urea, proteínas totales, colesterol, creatinina, calcio y fosforo) de cada tratamiento ($P>0.05$). La inclusión de enzimas exógenas en el nopal, no tiene efecto considerable en la producción de dichos metabolitos. Aunque los niveles más altos se muestran en el T3 (nopal adicionado con enzima uaaan, EU), y los valores más bajos se encuentran en el T2 (nopal adicionado con enzima comercial, EC) no muestran un margen aceptable con fines experimentales.

Al nopal fresco se le considera un reductor de las concentraciones de colesterol, grasa y glucosa, esto se le puede atribuir a las pectinas, gomas y mucilagos, componentes principales del nopal (Atti *et al.*, 2006), se ha reportado que estos encapsulan las grasas, moléculas de colesterol y glucosa, y las arrastran al tracto digestivo, eliminándolas de esta manera (Basurto *et al.*, 2006). Por lo que es preferible la inclusión del nopal en dietas de rumiantes de forma deshidratada y en presentación granulada o pulverizado, presentaciones que pudieran evitar esos factores.

Los efectos observados con el nopal, se deben a su contenido en fibra. Se sabe que la fibra es una mezcla de lignina, celulosa, hemicelulosa, pectina, mucílago y gomas, capaz de disminuir la absorción gastrointestinal de varios nutrientes; y en consecuencia los niveles sanguíneos de colesterol, triglicéridos y glucosa disminuyen por falta de absorción. (Ibáñez y Meckes, 1983). Existe la posibilidad de que la enzima al entrar en contacto con el ambiente perdiera parcialmente efecto sobre el sustrato, propiciando el acumulado diario de grandes cantidades de fibra en el tracto digestivo y así evitando la absorción de nutrientes como el colesterol, glucosa y proteínas evaluados en este estudio, resultando con esto niveles séricos normales en los ovinos sometidos a prueba.

El nopal maduro es rico en calcio pero esta característica cambia en función del tiempo de maduración del nopal, reduciéndose el contenido de calcio cuanto más joven es la penca (Rodríguez *et al.*, 2010). La biodisponibilidad del calcio presente en el nopal también cambia en función de su estado de desarrollo, podría ser mayor en las pencas de nopal con un peso inferior a 200 g. Lo anterior significa que las pencas con un peso mayor a 250 g no deben incluirse en la dieta, en virtud de que en los estados tardíos de maduración el contenido de oxalato de calcio se incrementa, el cual disminuye la biodisponibilidad del calcio libre presente en la penca de nopal (Rodríguez *et al.*, 2010). Por lo tanto es importante utilizar con fines alimenticios el nopal en un estadio de desarrollo adecuado, ni muy tierno, donde no cuenta con el suficiente calcio y tampoco excedido de madurez porque se limita la disponibilidad de este mineral.

Con respecto a esto el experimento no mostro diferencia significativa ($P > 0.05$) al incluir enzimas exógenas en el nopal (T2, T3) con el tratamiento que no incluía enzimas

(T1), contrario a lo descrito anteriormente, se esperarían niveles altos de este mineral en el suero sanguíneo de los animales sometidos a la prueba. Posiblemente los niveles de calcio en el organismo animal eran altos, pero se encontraba depositado en las estructuras óseas del animal, se recomendaría la medición de calcio en la misma estructura ósea del animal y heces.

Con respecto al fósforo, los valores mostrados están en los niveles normales, no es posible ligar su comportamiento al uso de enzimas.

Mantener la suplementación de rumiantes con proteína y/o la energía, o ambos son requeridos a menudo para sostener los niveles deseados de producción. La suplementación de proteína ha sido demostrada para incrementar el peso y la condición corporal (Clanton y Zimmerman, 1970; Rusche *et al.*, 1993, Beaty *et al.*, 1994) y el consumo de alimento y la digestibilidad (Kartchner, 1980; Köster *et al.*, 1996). A diferencia de la energía y algunos minerales, las proteínas no pueden ser almacenadas en el cuerpo del animal, por eso se requiere de constante suplementación (Church, 1988). Referente a esto el nopal contiene un % de proteína muy bajo, lo que impide la acumulación en suero sanguíneo, y por efecto las concentraciones de urea y creatinina son bajas.

Los resultados obtenidos en el presente estudio coinciden con la variabilidad de muchos otros trabajos en los que se trata de evidenciar la acción positiva de las enzimas fibrolíticas exógenas en rumiantes.

Existen autores que a través de varios años de ensayo con enzimas, no han conseguido resultados favorables. Beauchemin *et al.* (1995), Zinn y Salinas (1999) señalan que los resultados obtenidos de trabajos con enzimas fibrolíticas han sido poco consistentes para el caso de rumiantes.

En el año 2006 investigadores del Instituto Tecnológico El Llano Aguascalientes, México, realizaron un estudio en bovinos sobre la digestibilidad *in situ* de dietas con harina de nopal deshidratado conteniendo un preparado de enzimas fibrolíticas exógenas, en la que no se encontró efecto sobre la digestibilidad e incremento de

energía metabolizable (por la liberación de moléculas de glucosa con el rompimiento de las paredes celulares), pero si se obtuvo incremento de los ácidos grasos volátiles y nitrógeno amoniacal (Romo *et al.*, 2006).

Se sabe que algunos factores están directamente relacionados al proceso de prueba, que al igual que en este estudio en muchos otros no son posible controlar en su totalidad, estos factores impactan sobre los resultados finales de la utilización de extractos de enzimas exógenas fibrolíticas, tal y como lo señalan algunos autores, quienes indican que las enzimas funcionan eficazmente cuando alcanzan un equilibrio en los factores que las rodean, como la temperatura ambiental, inhibidores enzimáticos, cantidad de sustrato y acidez (McDonald y Greenhalgh *et al.*, 2006).

V CONCLUSIÓN

De acuerdo con la experiencia en este trabajo se llega a concluir que el uso del nopal fresco o succulento resulta contraproducente, se puede considerar el uso del nopal deshidratado o procesado para eliminar el efecto de aquellas sustancias que limitan o interfieren en la utilización de los nutrientes, incrementar la palatabilidad y facilidad de consumo, de tal forma que se asegure el consumo diario por el animal de acuerdo a la dieta base. Para poder medir las bondades de las enzimas en rendimiento animal los estudios realizados en un futuro pudieran estar enfocados al uso de combinaciones de varias enzimas, tal como: celulasas, amilasas, petinasas, xilosas, hemicelulasas; que pudieran tener mejores resultados al actuar sobre el sustrato de forma combinada. También una diversificación en el uso de aditivos en la dieta en la que además de enzimas se utilicen levaduras, prebióticos, probióticos, ionóforos y minerales en forma orgánica. Asimismo combinar con otros cultivos forrajeros como los henos, caña forrajera, entre otros alimentos ricos en fibra e incluso con forrajes y alimentos de mejor calidad como la alfalfa, ensilaje de maíz, harina de soya o cebada. De tal forma que en la dieta diaria no exista un factor limitante; lo cual permitiría incremento medible sobre el rendimiento animal.

No existe diferencia significativa entre variables estudiadas de cada tratamiento, por lo que se puede llegar a concluir que la enzima producida en la uaaan (EU) tiene el potencial para competir con las marcas comerciales existentes, se demostró que en condiciones de campo e interperismo la EU tiene la misma capacidad de reacción que la enzima comercial.

Sin embargo, para las condiciones propias del experimento (nopal fresco, enzima asperjada, aplicación de un solo tipo de aditivo, ovinos criollos y condiciones ambientales) no se recomienda el uso estándar en dietas de las enzimas celulasas; la de estatus comercial y la obtenida en las instalaciones de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, ya que por su condición comercial y procesos de obtención respectivamente ambas implican evidentemente un costo extra, con un efecto marginal y poco visible, es decir; los cambios en las concentraciones de los metabolitos en el

suero sanguíneo de ovinos no se les puede atribuir a la acción de las enzimas. Además el método de aplicación resulta poco práctico en un sistema de producción.

Considerando el origen natural y los nulos efectos negativos sobre la salud humana orientan hacia una tendencia a utilizar enzimas exógenas en dietas con forrajes alternativos de alimentación animal incrementando el desarrollo de nuevos complejos enzimáticos a bajo costo y técnicas más desarrolladas para su empleo práctico.

VI RESUMEN

Con motivo de la evaluación del comportamiento y respuesta de los metabolitos en suero sanguíneo de ovinos, con la inclusión en la dieta de nopal (*Opuntia ficus-indica*) combinado con enzima celulasa llevó a cabo este proyecto de investigación en el que se utilizaron 15 borregas adultas de raza criolla con el objetivo de evaluar la inclusión de dos enzimas al nopal (*Opuntia ficus-indica*) de la dieta (13% en dieta en base a MS), una enzima celulasa con estatus comercial (EC) de la marca SIGMA® y un extracto enzimático de celulasas (EU) producida en las instalaciones de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro (UAAAN) y proporcionada para este fin. Para el estudio se distribuyó el total de borregas en tres tratamientos; es decir, 5 borregas por tratamiento, donde tratamiento 1 (T1) fue el testigo, el tratamiento 2 (T2) le correspondió la EC y el tratamiento 3 (T3) contenía a la EU. La etapa de prueba consistió en alimentar a las borregas durante un periodo de 45 días, con dos servicios de alimento uno por la mañana (9:00 am) y otro por la tarde (4:00 pm), la cantidad se determinó en base al consumo de cada animal con ajustes durante el periodo dependiendo la cantidad no consumida, el alimento rechazado se retiraba y pesaba antes de servir el alimento nuevo. La aplicación de la enzima se realizaba 40 minutos antes de mezclar el nopal con el resto de los ingredientes, este se hacía asperjando con un atomizador el extracto de cada enzima directamente sobre los trozos de nopal. Se evaluaron metabolitos en suero sanguíneo (glucosa, colesterol, creatinina, proteínas totales y urea), además los minerales fósforo y calcio. Al analizar las variables de metabolitos en suero sanguíneo y minerales no hubo diferencia significativa ($P > 0.05$) entre tratamientos. En conclusión, es importante señalar que la EU es competitiva aun y cuando no se obtuvo diferencia significativa entre tratamientos, ya que en igualdad de condiciones las dos enzimas en cuestión reaccionaron con la misma tendencia. Sin embargo; para las condiciones propias del experimento no se recomienda el uso estándar en dietas de las enzimas celulasas (EC y EU) ya que por su condición comercial y procesos de obtención respectivamente ambas implica un costo extra, con un efecto marginal y poco evidente, es decir; los cambios en las concentraciones de los metabolitos en el suero sanguíneo de ovinos no se les puede atribuir a la acción de las enzimas.

VII LITERATURA CITADA

- Aguilar, M. I. 2010. Respuesta productiva y calidad de la carne de cordero suplementados con nopal fresco y deshidratado. Tesis. Colegio de posgraduados. Texcoco, México. pp. 3-4.
- Andrews, R., Greenhaff, P., Curtis, S., Perry, A and Cowley, A. J. 1998. The effect of dietary creatine supplementation on skeletal muscle metabolism in congestive heart failure. *Eur Heart J* 19: 617 - 622.
- Aranda. M. V., Brave, R. Casagrande. 2002. Colesterol en bovinos. Sitio argentino de Producción Animal. Carne y subproductos bovinos INTA.
- Atti, N., Mahouachi, M and Rouissi, H. 2006. The effect of spineless cactus (*Opuntia ficus-indica f. inermis*) supplementation on growth, carcass, meat quality and fatty acid composition of male goat kids. *Meat Science*. 73: 229-235.
- Basurto, S. D., Lorenzana, J. M., Magos, G. G. A. 2006. Utilidad del nopal en el control de la glucosa en la diabetes mellitus tipo 2. *Revista de la facultad de medicina de la UNAM*. 48 (4). 157-162.
- Batista, A. M. V., Mustafa, A. F., Santos, G. R. A., Carvalha, F. F. R., Dubeux Jr, J. C. B., Lira, M. A y Barbosa, S. B. P. 2003. Chemical composition and ruminal dry matter and crude protein, degradability of spineless cactus. *Journal of agronomy and Crop Science*. 189: 123-126 p.
- Beauchemin, K. A., Rode, L. M and Swalt, V. J. H. 1995. Fibrolytic enzymes increase fiber digestibility and growth rate of steers fed dry forages. *Can. J. Anim. Sci.* 75: 641-644.
- Bedford, M. R. 1993. J. Mode action of feed enzymes. *Appl. Poultry Res.* 2: 85-92.
- Ben Salem, H., Abdouli, H., Nefzaoui, A., El-Mastouri, A., Ben Salem, L. 2005. Nutritive value behavior, and growth of Barbarine lambs on oldman saltbush (*Atriplex*

- nummularia L.*) and supplemented or not with barley grains or spineless cactus (*Opuntia ficus-indica f. inermis*) pads. Small Ruminant Research. 59: 229-237.
- Bradley. T. S. 1969. Fisiología animal. Ediciones omega, S.A., Casanova, 220. Barcelona. Pp 271-272.
- Burroughs, W., Woods, W., Ewing, S. A., Greig, J. y Theurer, B. 1960. Enzyme additions to fattening cattle rations. J. Anim. Sci., 19: 458-464.
- Bus B. M., bvsc, phd, frcvs. 1999. Interpretación de análisis de laboratorio para clínicos de pequeños animales. Senior lecturer in small animal medicine royal Veterinary College. University of London. pp. 264 - 267, 276 - 293, 325 - 339.
- Caja, E. González, C. Flores, M.D. Carro y E. Albanell. 2003. Alternativas a los antibióticos de uso alimentario en rumiantes: probióticos, enzimas y ácidos orgánicos. Tesis. Universidad Autónoma de Barcelona. Barcelona, España.
- Chauhan, A. S., Afroze, S. G., Ramesh, M. N. R., Avula, R. Y, Rekha, M. N and Ramteke, R. S. 2004. Optimization of enzymatic liquefaction of papaya (*Carica papaya L.*) and jackfruit (*Artocarpus heterophyllus Lam.*) pulp using response surface methodology. Food, Agriculture and Environment. 2: 108-113.
- Chou, T. Y. C., Chang, M. M and Tsao, G. T. 1981. Structure, pre-treatment and hydrolysis of cellulose. Advances in Biochemical Engineering. 20: 16-42.
- Church, D. C. 1988. The ruminant animal: Digestive Physiology and Nutrition. Hall USA.
- Clanton, D. C and D. R. Zimmerman. Symposium on pasture methods for maximum production of beef cattle: Protein and energy requirements for female beef cattle. J. Anim. Sci. 30:122-132. 1970.
- Classen, H. L., Graham, H., Inbarr, J. and Bedford, M. R. 1991. Enzyme to lead to new products. Feedstuffs 63:22-24.

- Correa H. y Cuéllar A. 2004. Aspectos clave del ciclo de la úrea con relación al metabolismo energético y proteico en vacas lactantes. Tesis. Vol. 17:1. Universidad Nacional de Colombia. Medellín, Colombia.
- De Luca, 2008. Metabolismo del calcio y fosforo inorgánico. Burnet Laboratorios S.A. Artículos técnicos. Buenos Aires, Argentina.
- Eduard, B. Histoire de la Chimie (2003). Premio Nobel 1907. Sección Biographies de sitio web de la Facultad de Ciencias de París Sud - Orsay. url: <http://histoirechimie.free.fr/Lien/BUCHNER.htm>
- Fan, L. T., Lee, Y. H and Gharpuray, M. M. 1982. The nature of lignocellulosics and their pretreatments for enzymatic hydrolysis. *Advances in Biochemical Engineering*. 23: 158-187.
- González, De Buitrago, J. M., Arilla., Ferreiro, E y Sánchez Pozo, A. 1998. *Bioquímica Clínica*. McGraw Hill Interamericana de España. Primera edición. pp. 191 - 193.
- Guild, W. R. 1959. Chronic uremia in sheeps- current concepts. *J. Amer. Vet. Med. Ass.*, 134: 276.
- Hahn, B and Palmqvist, E. 2000. Fermentation of lignocellulosic hydrolysates. II: Inhibitors and mechanisms of inhibition. *Bioresource Technology*. 74: 25-33.
- Ibáñez, R., Meckes, M and Mellado, V. 1983. The hypoglucemic effect of *Opuntia streptacantha* studied in different animal experimental models. 7 (2): 175-81.
- Kaneko, Jiro J. 1980. *Clinical Biochemistry of Domestic Animals*. Third edition.
- Kartchner, R. J. 1980. Effects of protein and energy supplementation of cows grazing native winter range on intake and digestibility. *J. Anim. Sci*. 51:432-438.
- Ladisich, M. R., Lin, K. W., Voloch, M and Tsao, G. T. 1983. Process considerations in the enzymatic hydrolysis of biomass. *Enzyme and Microbial Technology*. 5: 82-102.

- Lee, C. H., Kim, D. H., Kim J. H., Bae, S. E., Seo, J. H and Oh, T. K. 2005. Enhancement of natural pigment extraction using *Bacillus* species xylanase. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 53: 2541-2545.
- Lee, J. 1997. Biological conversion of lignocellulosic biomass to ethanol. *Journal of Biotechnology*. 56: 1-24. Lee et al. 2005
- Leibholz, J. 1965. The free amino acid occurring in the blood plasma and rumen liquor of the sheep. *Aust. J. Agric. Res.*, 16: 973, 1965
- López, G. J. J. 2003. Producción y uso de opuntia como forraje en el centro-norte de México. En: Mondragon, J. C., Pérez G. S (Eds), *Cactus (opuntia spp) como forraje*.FAO. Producción y protección vegetal. 160 p.
- López, J.J. 2011. Uso y manejo del nopal forrajero en el noreste de México. IX Simposium-Taller Nacional y II Internacional de producción del nopal y el maguey. Escobedo, Nuevo León, México.
- Malherbe, W. D. 1963 Enzyme chemistry. an aid to veterinary diagnosis. *J. S. Afr. Vet. Med. Ass.*, 34: 257.
- Marín, A. R. M., O. Salazar. 2007. Caracterización y expresión recombinante de una celulasa de origen antártico. Tesis Maestría. Universidad de Chile. Santiago de Chile. pp. 78.
- Marsden, W. L., Gray, P. P. 1986. Enzymatic hydrolysis of cellulose in lignocellulosic materials. *CRC Critical Reviews in Biotechnology*. 3: 235-274.
- McConn, M. M., Nakata, P. A. 2004 *Agriculture Food Chemical*. Vol. 52. Houston, Tx. USA. Pp. 1371-1374.
- McDonald, P., Edwards, R. A., Greenhalgh, J. F. D., Morgan, C. A. 2006. *Nutrición animal*. Sexta edición. Editorial Acribia S.A. España. 215 p.

- McDonald P., R. Edwards A., J. F. Greenhalgh D., C. Morgan A. 1995. Animal Nutrition. 5a edición. Longman Scientific and Technical. p. 607.
- Medical Dictionary, 2011. http://enciclopedia_universal.esacademic.com/128211/metabolito. Consultado el 19 de abril del 2013.
- Montgomery, R. Conway, T y Spector, A. 1993. Bioquímica. Casos y texto. 5ª ed. Mosby year book. España.
- Muntifering, R. B., Wedekind, K. J., Knifley, T., Ely, D. G. 1985. Effects of Processing on the Supplemental Protein Value of Distillers Byproducts in Forage Diets. J. Anim. Sci. Vol. 61, No. 3.
- Nobel, P. S. 1999. Biología ambiental. pp. 37-50. In: Barbera, G., Inglese, P. y Pimienta, Eds. Agroecología, cultivo y usos del nopal. Estudio FAO Producción y Protección Vegetal, 132. Roma.
- NRC, 2000. Nutrient requirements of dairy cattle (7th Ed.). National Academy Press, Washington, D.C. pp. 45-85.
- Ovando, L., K. N. Waliszewski. 2005. Preparativos de celulasas comerciales y aplicaciones en procesos extractivos. Red de Revistas Científicas de América Latina y el Caribe, España y Portugal, pp. 113-122.
- Philippidis, G. P and Smith, T. K. (1995) Limiting factors in the simultaneous saccharification and fermentation process for conversion of cellulosic biomass to fuel ethanol. Applied Biochemistry and Biotechnology. 51/52: 117-124.
- Pinos, J. M y Gonzales, S. S. 2001. Uso de enzimas fibrolíticas glucosiladas en la alimentación de rumiantes. Vol. 3. Alltech, México. D.F. 57-73.
- Quintero, R. 2008. Uso de biomasa: hidrólisis paso fundamental. Sao Paulo, Brasil.

- Rastogi, N. K., Rajesh, G and Shamala, T. R. 1998. Optimization of enzymatic degradation of coconut residue. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 76: 129-134.
- Rawn, D.J. (1989). *Bioquímica*. 1ª edición. Editorial Interamerica. McGraw - Hill.
- Roberts, A. J., R. A. Nugent, J. Klindt y T. G. Jenkins. 1997. Circulating insulin-like growth factor I, insulin-like growth factor binding proteins, growth hormone, and resection of estrus in postpartum cows subjected to dietary energy restriction. *J. Anim. Sci.*
- Rodríguez, M. E. 2010. *Los secretos del nopal*. Centro de física aplicada y tecnología avanzada. UNAM. México. DF. Vol. 1. Pp.1.
- Rodríguez, M. E., Rojas, I., De Lira, C., Cornejo, A., Del Real, C., Muñoz, A., Aguilera, A., Gutiérrez, E y Duran, Y. 2008. Estudio de la formación de cristales de oxalato de calcio en pencas de nopal (*opuntia ficus indica*) en función de su etapa de desarrollo. Centro de Física Aplicada y Tecnología Avanzada, Universidad Nacional Autónoma de México, Campus Juriquilla, Querétaro, México. C. P. 76230, A. P. 1-1010.
- Royo, R. R., G. D. Mendoza, O. D. Montañez, S. Rebollar, D. Cardoso, J. Hernández y F.J. 2007. González. *Enzimas amilolíticas exógenas en la alimentación de rumiantes*. Vol. 23. No. 002. Universidad Juárez Autónoma de Tabasco, Villahermosa, México. pp. 173-182.
- Romo, M. M., Tirado G., Mejía I., Camarillo, I y Vázquez, C. 2006. Digestibilidad in situ de dietas con harina de nopal deshidratado conteniendo un preparado de enzimas fibrolíticas exógenas. Tesis. Instituto Tecnológico El Llano Aguascalientes, AP 74-2. Aguascalientes, México.
- Rook, J.A.F and P.C. Thomas. 1983. *Nutritional Physiology of Farm animals* Longman edition. London and New York. Pp. 115-122.

- Rovics, J. J and Ely, C. M. 1962. Response of beef cattle to enzyme supplements. J. Anim. Sci. 21:1012.
- Ryu, D. D and Mandels, M. 1980. Cellulases: biosynthesis and applications. Enzyme and Microbial Technology. 2: 91-102.
- SAGARPA, 2005. http://www.financierarural.gob.mx/informacionsectorrural/documents/monografia_ovino.pdf. Consultado el 25 de noviembre del 2013.
- SAGARPA, 2012. http://www.campomexicano.gob.mx/portal_siap/Integracion/EstadisticaBasica/Pecuario/PoblacionGanadera/ProductoEspecie/ovino.pdf. Consultado el 25 de noviembre del 2013.
- Sarker, B. C., Singh, R. K., Kumbhar, B. K., Agrawal, Y. C., Kulshreshtha, M. K. 1999. Response surface analysis of enzyme assisted oil extraction factors for sesame, groundnut and sunflower seeds. Journal of Food Science and Technology. 36: 511-514.
- SIAP, 2012. http://www.siap.gob.mx/index.php?option=com_content&view=article&id=3&Itemid=29. Consultado el 25 de noviembre del 2013.
- SIAP, 2012. http://www.siap.gob.mx/index.php?option=com_wrapper&view=wrapper&Itemid=369. Consultado el 25 de Noviembre del 2013.
- Sreenath, H. K., Nanjundaswamy, A. M and Sreekantiah, K. R. 1987. Effect of various cellulases and pectinases on viscosity reduction of mango pulp. Journal of Food Science. 52: 230-321.
- Sreenath, H. K, Sudarshana, K. R and Santhanam, K. 1995. Enzymatic liquefaction of some varieties of mango pulp. Journal of Food Science. 28: 196-200.
- Tegegne, F., Kijora, C.K and Peters, J. 2007. Study on the optimal level of cactus pear (*Opuntia ficus-indica*) supplementation to sheep and its contribution as source of water. Small Ruminant Research. 72: 157-164.

- Torres, G. G., T. Arbaiza, F. Carcelén y O. Lucas. 2009. Comparación de las técnicas in situ, in vitro y enzimática (celulasa) para estimar la digestibilidad de forrajes en ovinos. *Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú*. 20 (1): pp. 5-9.
- Van Lier, E y Regueiro, M. 2008. Digestión en Retículo-Rumen. Facultad de Agronomía, Universidad de la República. Montevideo, Uruguay. 30p.
- Vázquez, E. 2003. Bioquímica y biología molecular en línea. Comité de publicaciones, facultad de medicina. UNAM. México D.F.
- Yang, A., Lanari, M. C., Brewster, M and Tume, R. K. 2002. Lipid stability and meat colour of beef from pasture and grain-fed cattle with or without vitamin E supplement. *Meat Science*. 60: 41-50.
- Zinn, R. A y Salinas, J. 1999. Influence of fibrozyme on digestive function and growth performance of feedlot steers fed a 78% concentrate growing diet. En: Lyons, T. P and Jacques, K. A. *Biotechnology in the feed industry. Proceedings of the fifteenth annual symposium*. Nottingham University Press. Loughborough: 313-319.

VIII APÉNDICE

Análisis estadístico del comportamiento de los metabolitos en suero sanguíneo en ovinos alimentados con una dieta a base de nopal y enzima celulasa.

Modelo lineal general: glucosa vs. T

Factor	Tipo	Niveles	Valores
T	fijo	3	1, 2, 3

Análisis de varianza para glucosa, utilizando SC ajustada para pruebas

Fuente	GL	SC Sec.	SC Ajust.	CM Ajust.	F	P
T	2	297.1	297.1	148.6	0.86	0.450
Error	12	2085.1	2085.1	173.8		
Total	14	2382.3				

S = 13.1818 R-cuad. = 12.47% R-cuad.(ajustado) = 0.00%

Observaciones inusuales de glucosa

Obs	glucosa	Ajuste	EE de ajuste	Residuo	Residuo estándar
14	6.9000	37.2600	5.8951	-30.3600	-2.58 R

R denota una observación con un residuo estandarizado grande.

Agrupar información utilizando el método de Tukey y una confianza de 95.0%

T	N	Media	Agrupación
1	5	39.1	A
3	5	37.3	A
2	5	28.9	A

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.

Modelo lineal general: urea vs. T

Factor	Tipo	Niveles	Valores
T	fijo	3	1, 2, 3

Análisis de varianza para urea, utilizando SC ajustada para pruebas

Fuente	GL	SC Sec.	SC Ajust.	CM Ajust.	F	P
T	2	643.81	643.81	321.90	3.66	0.057

Error	12	1056.02	1056.02	88.00
Total	14	1699.82		

S = 9.38090 R-cuad. = 37.87% R-cuad.(ajustado) = 27.52%

Observaciones inusuales de urea

Obs	urea	Ajuste	EE de ajuste	Residuo	Residuo estándar
9	42.0300	21.8080	4.1953	20.2220	2.41 R

R denota una observación con un residuo estandarizado grande.

Agrupar información utilizando el método de Tukey y una confianza de 95.0%

T	N	Media	Agrupación
3	5	26.2	A
2	5	21.8	A
1	5	10.7	A

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.

Modelo lineal general: prot. tot. vs. T

Factor	Tipo	Niveles	Valores
T	fijo	3	1, 2, 3

Análisis de varianza para prot. tot., utilizando SC ajustada para pruebas

Fuente	GL	SC Sec.	SC Ajust.	CM Ajust.	F	P
T	2	121.2	121.2	60.6	0.30	0.750
Error	12	2464.9	2464.9	205.4		
Total	14	2586.1				

S = 14.3321 R-cuad. = 4.69% R-cuad.(ajustado) = 0.00%

Observaciones inusuales de prot. tot.

Obs	prot. tot.	Ajuste	EE de ajuste	Residuo	Residuo estándar
13	71.0000	41.3200	6.4095	29.6800	2.32 R

R denota una observación con un residuo estandarizado grande.

Agrupar información utilizando el método de Tukey y una confianza de 95.0%

T	N	Media	Agrupación
3	5	41.3	A
2	5	37.7	A
1	5	34.4	A

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.

Modelo lineal general: colesterol vs. T

Factor	Tipo	Niveles	Valores
T	fijo	3	1, 2, 3

Análisis de varianza para colesterol, utilizando SC ajustada para pruebas

Fuente	GL	SC Sec.	SC Ajust.	CM Ajust.	F	P
T	2	13220	13220	6610	0.53	0.602
Error	12	149848	149848	12487		
Total	14	163068				

S = 111.747 R-cuad. = 8.11% R-cuad.(ajustado) = 0.00%

Observaciones inusuales de colesterol

Obs	colesterol	Ajuste	EE de ajuste	Residuo	Residuo estándar
2	403.000	160.000	49.975	243.000	2.43 R

R denota una observación con un residuo estandarizado grande.

Agrupar información utilizando el método de Tukey y una confianza de 95.0%

T	N	Media	Agrupación
3	5	188.6	A
1	5	160.0	A
2	5	116.4	A

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.

Modelo lineal general: creatinina vs. T

Factor	Tipo	Niveles	Valores
T	fijo	3	1, 2, 3

Análisis de varianza para creatinina, utilizando SC ajustada para pruebas

Fuente	GL	SC Sec.	SC Ajust.	CM Ajust.	F	P
T	2	20.735	20.735	10.368	1.06	0.375
Error	12	116.878	116.878	9.740		
Total	14	137.614				

S = 3.12088 R-cuad. = 15.07% R-cuad.(ajustado) = 0.91%

Observaciones inusuales de creatinina

Obs	creatinina	Ajuste	EE de ajuste	Residuo	Residuo estándar
5	2.5200	9.1080	1.3957	-6.5880	-2.36 R

R denota una observación con un residuo estandarizado grande.

Agrupar información utilizando el método de Tukey y una confianza de 95.0%

T	N	Media	Agrupación
1	5	9.1	A
2	5	8.4	A
3	5	6.3	A

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.

Modelo lineal general: calcio vs. T

Factor	Tipo	Niveles	Valores
T	fijo	3	1, 2, 3

Análisis de varianza para calcio, utilizando SC ajustada para pruebas

Fuente	GL	SC Sec.	SC Ajust.	CM Ajust.	F	P
T	2	28.706	28.706	14.353	3.62	0.059
Error	12	47.528	47.528	3.961		
Total	14	76.234				

S = 1.99014 R-cuad. = 37.65% R-cuad.(ajustado) = 27.26%

Agrupar información utilizando el método de Tukey y una confianza de 95.0%

T	N	Media	Agrupación
3	5	11.1	A
1	5	8.8	A
2	5	7.8	A

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes

Modelo lineal general: fosforo vs. T

Factor	Tipo	Niveles	Valores
T	fijo	3	1, 2, 3

Análisis de varianza para fosforo, utilizando SC ajustada para pruebas

Fuente	GL	SC Sec.	SC Ajust.	CM Ajust.	F	P
T	2	1.654	1.654	0.827	0.32	0.735
Error	12	31.452	31.452	2.621		
Total	14	33.106				

S = 1.61895 R-cuad. = 5.00% R-cuad.(ajustado) = 0.00%

Agrupar información utilizando el método de Tukey y una confianza de 95.0%

T	N	Media	Agrupación
1	5	2.5	A
3	5	2.2	A
2	5	1.7	A

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.