

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA
“ANTONIO NARRO”
UNIDAD LAGUNA
DIVISIÓN REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL



"TASA DE DESAPARICIÓN DE LA PROTEÍNA DE GRANOS DE DESTILERÍA
DESHIDRATADOS (GDD), USADOS EN LA ALIMENTACIÓN DE BOVINOS
LECHEROS"

POR:

FELIX EDUARDO BERNAL SALAZAR

TESIS:

PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL PARA

OBTENER EL TÍTULO DE:

MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

Torreón, Coahuila, México.


Junio de 2013

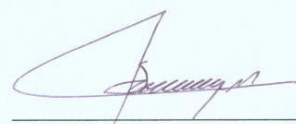
UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA
"ANTONIO NARRO"
DIVISIÓN REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL



"TASA DE DESAPARICIÓN DE LA PROTEÍNA DE GRANOS DE DESTILERÍA
DESHIDRATADOS (GDD), USADOS EN LA ALIMENTACIÓN DE BOVINOS
LECHEROS"

POR: FELIX EDUARDO BERNAL SALAZAR


PhD. JUAN DAVID HERNÁNDEZ BUSTAMANTE
ASESOR PRINCIPAL


MVZ. RODRIGO ISIDRO SIMÓN ALONSO
COORDINADOR DE LA DIVISIÓN REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL
Coordinación de la División
Regional de Ciencia Animal



TORREÓN, COAHUILA, MÉXICO.

JUNIO DE 2013

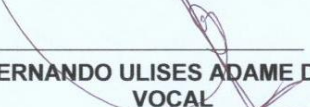
UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA
"ANTONIO NARRO"
DIVISIÓN REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL



"TASA DE DESAPARICIÓN DE LA PROTEÍNA DE GRANOS DE DESTILERÍA
DESHIDRATADOS (GDD), USADOS EN LA ALIMENTACIÓN DE BOVINOS
LECHEROS"

TESIS QUE SE SOMETE A LA CONSIDERACIÓN DEL H. JURADO EXAMINADOR
COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL TÍTULO DE MÉDICO
VETERINARIO ZOOTECNISTA APROBADO POR:


PhD. JUAN DAVID HERNÁNDEZ BUSTAMANTE
PRESIDENTE DEL JURADO


Dr. FERNANDO ULISES ADAME DE LEÓN
VOCAL


MVZ. FEDERICO ANTONIO HERNÁNDEZ TORRES
VOCAL


MVZ. JESÚS GAETA COVARRUBIAS
VOCAL SUPLENTE

TORREÓN, COAHUILA, MÉXICO.

JUNIO DE 2013

DEDICATORIA

A mis padres Félix Bernal Nava y Rútilia Salazar Librado por darme la oportunidad y apoyarme a seguir con mis estudios profesionales.

A mis hermanas Angélica Bernal y Marta Mónica Bernal por apoyarme y creer en mí.

A mi Alma Mater por brindarme un segundo hogar y prepararme para ayudar a mis semejantes.

AGRADECIMIENTO

A mi asesor PhD. Juan David Hernández Bustamante por el tiempo que me brindo, por su ayuda en este trabajo porque sin su experiencia, conocimientos y muy buenas aportaciones este trabajo no se hubiera realizado además de apoyarme en dar este último pasó de la licenciatura.

A todas las personas que me apoyaron, animaron e impulsaron para llegar hasta este momento.

INDICE GENERAL

	PÁGINA
INDICE DE CUADROS.....	xiii
INDICE DE FIGURAS.....	ix
RESUMEN.....	xii
1. INTRODUCCIÓN.....	1
2. JUSTIFICACIÓN.....	2
3. OBJETIVOS.....	2
4. HIPÓTESIS.....	2
5. METAS.....	2
6. REVISIÓN DE LITERATURA.....	3
6.1 Granos de destilería.....	3
6.1.1 ¿Qué son?.....	4
6.1.2 ¿Cómo se obtienen?.....	5
6.1.3 Porcentaje en la dieta.....	8
6.1.4 Etanol.....	9
6.2 Técnica de Orskov (Bolsa de dacrón).....	10
6.3 Rumenotomía.....	15
6.4 Tasa de desaparición	18
7. MATERIALES Y MÉTODOS.....	23
8. RESULTADOS	47

9. DISCUSIÓN.....	48
10. CONCLUSIÓN.....	48
11. LITERATURA CITADA.....	49

INDICE DE CUADROS

	PÁGINA
1. GRUPO DE GENEROS BACTERIANOS.....	19
2. PORCENTAJES DE LA PROTEÍNA POSTPRANDIALDE LOS DDG´S....	47

INDICE DE FIGURAS

	PÁGINA
1. Diagrama del proceso de obtención de etanol como biocombustible y subproductos.....	7
2. Proceso de molienda.....	8
3. Aplicación de tranquilizante.....	24
4. Marcado de la circunferencia.....	25
5. Circunferencia para incidir.....	25
6. Aplicación de anestesia local en forma subcutánea.....	26
7. Incisión de piel.....	26
8. Incisión de piel de acuerdo a la circunferencia marcada.....	27
9. Incisión del musculo oblicuo abdominal externo.....	27
10. Incisión del musculo oblicuo abdominal interno.....	28
11. Punto inicial de fijación.....	28
12. Retracción de rumen con pinzas homeostáticas.....	29
13. Incisión de rumen.....	29
14. Utilización de agujón para suturar.....	30
15. Aplicación de suturas con puntos separados.....	30
16. Fistula ruminal terminada.....	31
17. Asepsia de la herida.....	31
18. Aplicación de promotores de la cicatrización.....	32
19. Fistula ruminal expuesta con aluspray.....	32

20. Colocación de la cánula ruminal.....	33
21. Revisión de la cánula por dentro.....	33
22. Colocación del tapón de la cánula.....	34
23. Colocación de la pestaña de seguridad de la cánula.....	34
24. Cánula colocada de forma correcta.....	35
25. Fistula con formación de granulomas pre cicatrización.....	35
26. Cicatrización correcta con formación de tejido fibroso.....	36
27. Lavado de la bolsa de nylon.....	36
28. Al lavarse la bolsa muestra la porosidad dejando salir agua.....	37
29. Peso de la muestra a incubar.....	37
30. Bolsa con DDG´S amarrada para incubarse.....	38
31. Colocación de bolsas en ancla ruminal.....	38
32. Ancla ruminal con todas las muestras a incubar.....	39
33. Introducción de las muestras en rumen a través de la cánula.....	39
34. Obtención de la primera muestra incubada que corresponde a la hora cero.....	40
35. Obtención de muestras subsecuentes a la hora cero.....	40
36. Animal con muestras en procesos de incubación.....	41
37. Identificación de muestra incubada así como matraz micro kjeldahl para meter la muestra a pre digestión.....	41
38. Peso de la muestra para pre digestión.....	42
39. Adición de ácido sulfurico-salicilico a la muestra.....	42

40. Muestras con tiosulfito de sodio calentándose y formación de espuma.....	43
41. Digestión a una temperatura de 360-390° C.....	43
42. Muestra aclarada y en ebullición por una hora.....	44
43. Aparato de destilación procesando una muestra.....	44
44. Pasando la muestra destilada del vaso de precipitado al matraz.....	45
45. Agregando ácido sulfúrico 0.05 N con una microburetra de 10 ml con graduaciones de 0.02 ml.....	45
46. Logrado el punto de equivalencia ya que la muestra pasó de verde a rosa.	46
47. Porcentaje de desaparición postprandial de la proteína de los DDG'S.....	47

RESUMEN

El presente trabajo tuvo la finalidad de dar a conocer datos recientes de los granos de destilería deshidratados (DDG) y para ello se analizan los siguientes puntos en donde se describe, que son, como se obtienen, que porcentaje se le proporciona al animal en la dieta, todo esto para poner al tanto a los productores de ganado lechero, de un subproducto que se encuentra disponible en el mercado a un bajo costo y con altos niveles de nutrientes como es el caso de la proteína.

Así mismo este proyecto tuvo la finalidad de proporcionar datos sobre la tasa de desaparición de la proteína por la técnica *in situ* ya que se carecen de datos regionales de esta y para ello se utilizó un bovino con fistula ruminal permanente, para poder llevar a cabo la técnica de Orskov (Bolsa de dacrón).

RESULTADOS

Se obtuvieron altas tasas de desaparición de la proteína de los DDG postprandial, debido a la alta concentración proteica de estos. Estas altas tasas de desaparición se observaron en la hora cero con un 87.06 %, en la hora cuatro con un 88.58 % y en la hora ocho con un 86.37 % de la proteína, estos porcentajes de desaparición se logran por la actividad bacteriana en el rumen, estos tres datos son los más relevantes del presente trabajo ya que en forma natural es el tiempo que estarían expuestos los DDG a la actividad bacteriana.

CONCLUSIÓN

De acuerdo a lo observado se recomienda el uso de DDG por la alta tasa de desaparición de la proteína que se tiene.

Palabras clave: DDG, Fistula Ruminal, Proteína, Orskov, Degradabilidad.

1.INTRODUCCIÓN

Cada vez los mercados internacionales exigen que se profundice el destino del maíz para el consumo humano y últimamente se busca su industrialización para otros usos, básicamente para biocombustible como el etanol a partir del almidón quedando así los residuos o comúnmente llamados DDG'S que es en lo que se basa el presente trabajo.

La producción de biocombustibles particularmente etanol, ha aumentado rápidamente en todo el mundo a fin de reducir la dependencia del petróleo y mejorar el medio ambiente. Durante el proceso de obtención de etanol a partir de diversos ingredientes ricos en almidón se generan diversos subproductos de destilería los cuales representan una materia prima con alto contenido de proteína En la mayor parte de los procesos se utilizan cereales como maíz en EUA.

Los residuos de destilería o DDG'S por sus siglas en inglés, (Dried Distillers Grains with Solubles), no son nuevos ya que tienen más de 100 años de uso, lo novedoso es que actualmente las plantas industriales que producen etanol a partir de maíz dejan estos residuos disponibles y aunado a la respuesta en producción y los precios actuales de insumos apoyan la utilización de granos de destilería en las raciones de vacas lecheras.

Los granos de destilería actuales en comparación con los pasados contienen más proteínas 28 a 36%. De aquí el interés en la utilización para la producción ganadera en general y para la lechera en particular.

De esta forma se vuelve una alternativa de remplazo para la utilización en las raciones sin embargo hay que recordar que cualquier remplazo afecta el equilibrio de las dietas y por ende la producción.

Teniendo en cuenta que el porcentaje de proteína aumenta de 2.5 a un 3% del producto original después del proceso que se realiza para la producción de etanol surge la necesidad de saber el porcentaje de desaparición de la proteína en el ganado para ello es necesario la utilización de un bovino con fistula ruminal

permanente alimentado con alfalfa como alimento base para la realización de digestibilidad *in vivo*.

2. JUSTIFICACIÓN

Esta investigación es realizada con la finalidad de determinar algunos parámetros nutricionales locales ya que no se cuenta con información actual de estos. Aunque desde hace mucho tiempo se le lleva dando uso a los DDG'S en los establos lecheros locales sin saber que aportes nutricionales proporciona en la dieta del animal.

Entonces este trabajo tiene la finalidad de calcular la tasa de desaparición de la proteína de los DDG'S ya que estos obtenidos después del proceso de producción del etanol tienen un valor alto en nutrientes como es la proteína y además son de muy bajo costo lo que facilita la utilización en las raciones y considerando que la concentración de almidón que tiene es menor que el grano de maíz repercute en menor número de vacas con problemas de acidosis ruminal.

3. OBJETIVOS

Determinar algunos parámetros nutricionales que se encuentra presentes en los DDG'S por la técnica *in situ* para evaluar el aprovechamiento de estos al usarla como sustituto en las raciones para el ganado bovino.

4. HIPÓTESIS

Se espera encontrar altas tasas de desaparición postprandial en el rumen, debido a la alta concentración proteica de los DDG'S.

5. METAS

Contribuir al conocimiento de la nueva opción del uso de subproductos de la destilería de granos en la producción animal.

6. REVISIÓN DE LITERATURA

6.1 Granos de destilería

El profesor Randy Shaver(citado por Sheidegger, 2008) del Department of Dairy Science de la Universidad de Wisconsin en Madison, se refirió al uso de los subproductos de granos de destilería (DDGS por sus siglas en inglés, Dried Distillers Grains with Solubles), producto que se encuentra disponible cada vez en mayor cantidad, debido a la producción de etanol.

La definición oficial de la AAFCO de DDGS es “El producto obtenido después de remover el etil alcohol por medio de destilación de la fermentación de grano o de una mezcla de granos con levaduras, condensando y deshidratando al menos tres cuartas partes de los sólidos de todo el destilado resultante a través de métodos de destilación empleados en la industria destilera de granos”.

EUA está produciendo cantidades crecientes de granos secos de destilería a partir del maíz (DDG), y el valor nutritivo de éstos DDG de “nueva generación” es mucho mejor en comparación con las fuentes tradicionales de DDG en la molienda seca y en la industria del etanol.

El maíz es el principal grano utilizado en la producción de combustible etanol en los Estados Unidos. El trigo, la cebada, el centeno y el sorgo, o combinación de estos granos también es utilizado en ciertas regiones de Norteamérica y otros países, dependiendo de la cantidad y precio de los granos disponibles. Consecuentemente, el tipo de grano utilizado como materia prima, afectará grandemente el perfil de nutrientes y el valor alimenticio de los DDG(G. Shurson, et al. 2005). Las características del producto final dependen de la calidad del producto inicial y de las condiciones del proceso (temperaturas y tiempo de cocción, destilación, deshidratación y granulado). En general, concentran entre 2,2 y 3 veces el contenido en proteína, en relación con el producto original. El calor aplicado durante los procesos de fermentación, destilación y secado reduce la

solubilidad de la proteína y aumentan su indegradabilidad. Sin embargo, la digestibilidad intestinal de sus aminoácidos, tanto para monogástricos como para rumiantes no es muy elevada, especialmente cuando las temperaturas en el proceso de secado superan los 100 °C durante varios minutos. De aquí, que el valor proteico sea superior en los productos húmedos que en los secos(C. de Blas, et al. 2007).

Los niveles de proteína cruda en base a materia seca, son menos variables pero aun así tienen un rango de 27.8% en el Manual de Co-Productos para Uso Pecuario y de 29.6% en el Manual de Destilados de Uso Pecuario (citados por G. Shurson, et al. 2005).Asimismo, había un rango muy amplio en la concentración de nutrientes entre las fuentes de DDG. Los rangos en las concentraciones de nutrientes seleccionados (como tal) fueron: Proteína Cruda 23 a 29%.

6.1.1 ¿Qué son?

Los Granos Secos de Destilería (DDG) son un co-producto de la molienda seca para la producción de combustible etanol y de industrias que producen ciertas bebidas. Durante el proceso de producción de etanol, el almidón del grano se convierte a alcohol y dióxido de carbono. Durante éste proceso, la concentración de los nutrientes remanentes en el grano se incrementa por tres veces(G. Shurson, et al. 2005).

De esta forma son usados como ingrediente en la elaboración de alimento para ganado y aves, así como en la acuicultura, debido a su precio competitivo y a sus valores nutritivos (Financiera Rural, 2011).

Así mismo los DDG son un producto muy palatable, especialmente el producto fresco (origen nacional) en rumiantes, con altos contenidos en levaduras, minerales y vitaminas del grupo B. No obstante, su inclusión a niveles elevados puede alterar la fermentación ruminal de la fibra por su alto contenido en grasa

insaturada. La adición de sales cálcicas, sódicas o ácido fosfórico para ajustar el pH, a fin de favorecer el rendimiento del proceso(C. de Blas, et al. 2007).

6.1.2 ¿Cómo se obtienen?

Durante 1970 y 1980, se inició la construcción de plantas de etanol a gran escala, y los investigadores empezaron a enfocarse en la evaluación de granos de destilería secos (DDG). De 1986 hasta 1998 se llevó a cabo muy poca investigación para evaluar el uso de co-productos de destilería en dietas, a pesar de que varias plantas nuevas de molienda seca para la producción de etanol iniciaron operaciones. Estas plantas de molienda seca de etanol relativamente nuevas, cuentan con la más alta y moderna tecnología, diseño de ingeniería, tecnología de fermentación y proceso de secado en comparación con las plantas antiguas construidas en décadas anteriores. Aunque hay una considerable variación en el contenido y la digestibilidad de nutrientes entre las fuentes de DDG, varios trabajos de investigación han demostrado que los DDG producidos en plantas de etanol de “nueva generación” tienen mayores niveles de nutrientes esenciales que los encontrados en el NRC y otras fuentes publicadas(G. Shurson, et al. 2005).

El proceso de secado de los DDGS es clave para no degradar por calor las proteínas presentes en este subproducto (Scheidegger, 2008). Los subproductos de destilería se obtienen mediante secado de los residuos del proceso de obtención de etanol como biocombustible, a partir de diversos ingredientes ricos en almidón. En la mayor parte de los procesos se utilizan cereales como el maíz. El proceso en sí consiste en convertir los almidones y azúcares de la materia prima inicial en etanol. Por tanto, en el producto final se reduce drásticamente el contenido en hidratos de carbono no estructurales y se concentra proporcionalmente el porcentaje del resto de nutrientes (C. de Blas, et al. 2007).

Para la producción de etanol, fueron desarrolladas diversas líneas tecnológicas de primera generación para la obtención del biocombustible, las dos más usadas

tienen al grano de maíz como materia prima. La primera de estas, conocida como de molienda seca, consiste en moler los granos de maíz para producir harina, a la cual se le añaden agua y enzimas para cocerla. Luego se agrega levadura para fermentar la harina de maíz y obtener etanol por destilación. Esta es la ruta tecnológica más empleada actualmente, pues las plantas productoras de etanol por molienda seca constituyen (en 2008) 80% de la capacidad de producción. La segunda tecnología, conocida como de molienda húmeda, consiste en cocer el grano de maíz en agua caliente para separar la proteína del almidón. La fracción que contiene al almidón es molida y se le separa el almidón para secarlo. Éste es empleado para obtener azúcares los que son fermentados para obtener etanol. Aunque fue la primera ruta tecnológica en ser desarrollada, está declinando debido a su menor productividad respecto a la de molienda seca(Álvarez, 2009).

El proceso industrial consta de 5 fases:

1. Selección, limpieza y molienda del grano.
2. Sacarificación o paso del almidón a glucosa mediante la utilización de levaduras apropiadas.
3. Fermentación de la glucosa para producir etanol (cada molécula de glucosa produce 2 moléculas de etanol y 2 de CO₂).
4. Destilación del etanol mediante proceso de vaporización por calentamiento.
5. Recogida de los residuos y secado de los mismos con aire caliente hasta un 10-12% de humedad, para su posterior comercialización en forma de gránulo.

El proceso da lugar a dos tipos de subproductos: los granos de destilería (DDG) y los mal llamados solubles (DDS, vinazas o *thin stillage*). Los DDG contienen fundamentalmente residuos no fermentados de los granos originales. Los DDS contienen levaduras, nutrientes solubles y las partículas de granos más finas(C. de Blas, et al. 2007).

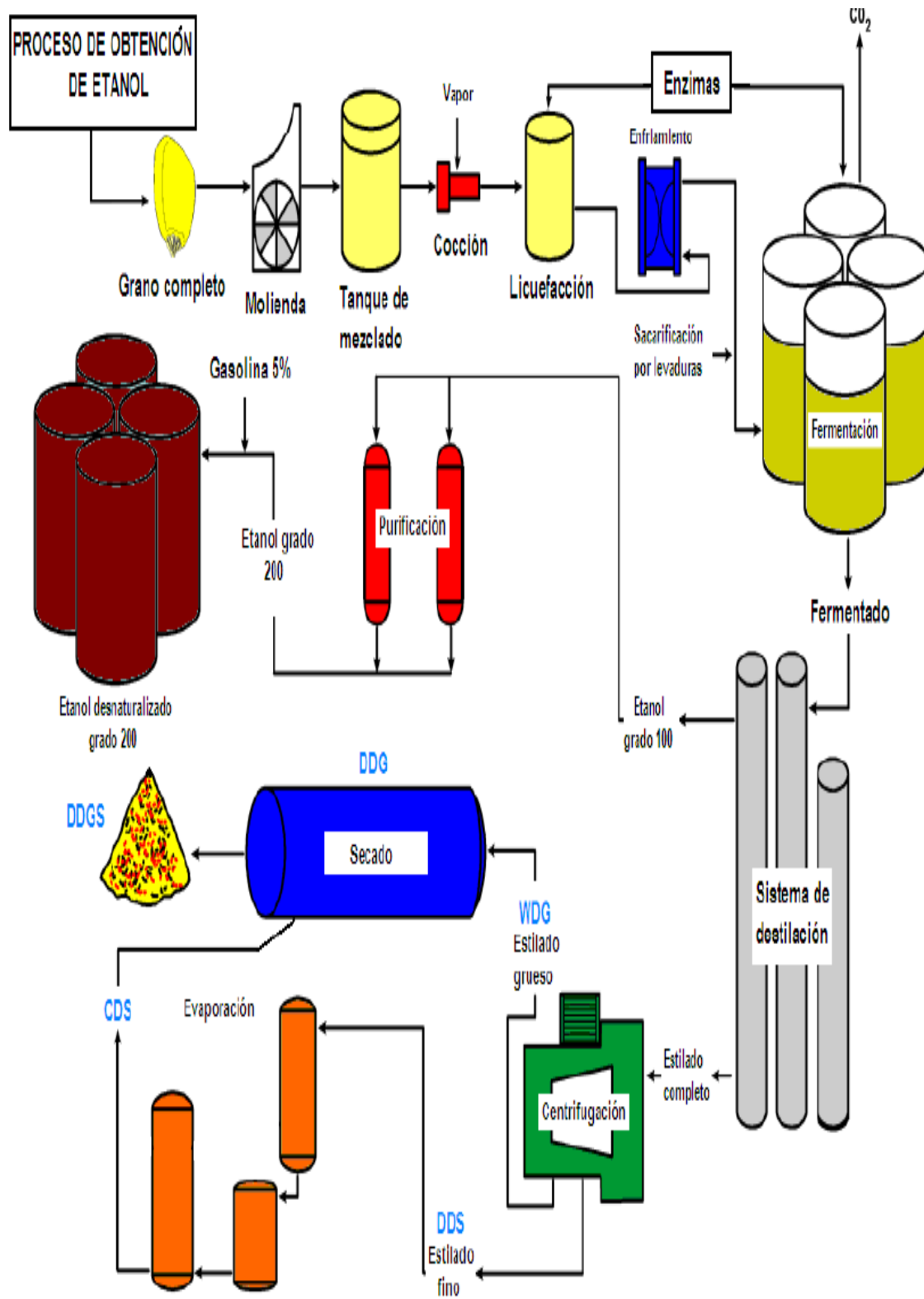


Figura. 1. Diagrama del proceso de obtención de etanol como biocombustible y subproductos (Barragán et al. 2008).

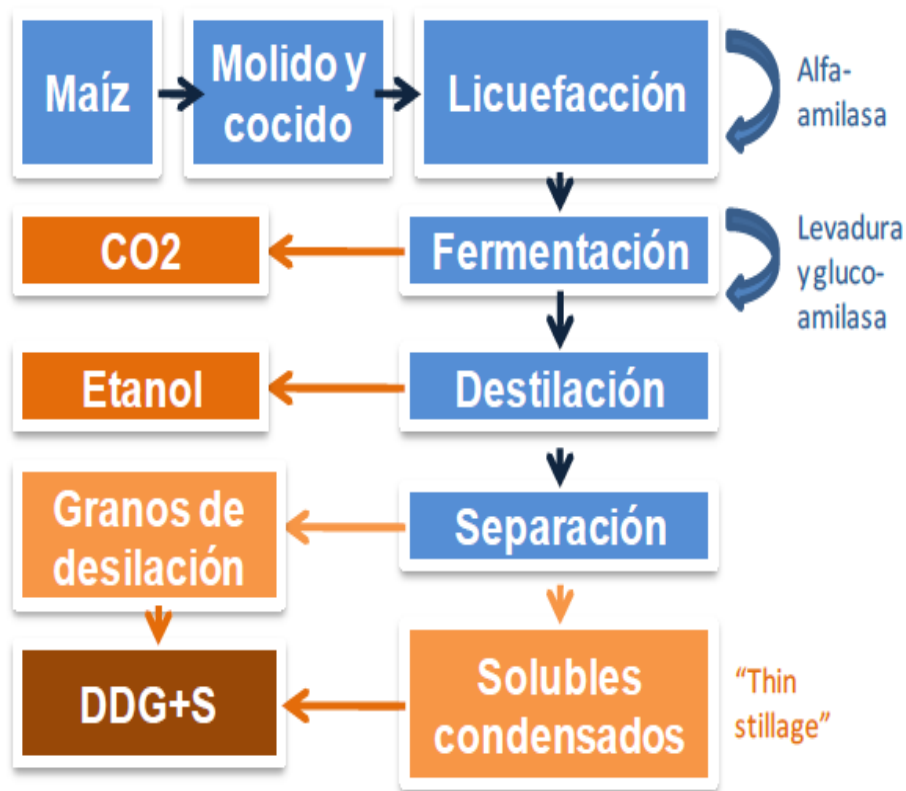


Figura 2. Proceso de molienda (Financiera Rural, 2011).

6.1.3 Porcentaje en la dieta

Los granos de destilería con o sin solubles son una fuente rica en proteína no degradable en el rumen (PNDR), o proteína de sobrepaso (Barragán et al. 2008).

Las respuestas en producción y los precios actuales de insumos apoyan la inclusión de granos de destilería en las raciones de vacas lecheras, agregar un 10 a 20 por ciento de la materia seca en forma de DDG es una inclusión razonable. Su mayor empleo nutricional se encuentra como reemplazo parcial de maíz/harina de soja en dietas con moderado a alto contenido de almidón (Scheidegger, 2008).

Se ha reportado que no afectan el porcentaje de grasa en la leche u otros efectos detrimentales (Barragán et al. 2008).

6.1.4 Etanol

El maíz es el principal insumo en las plantas de producción de etanol ya sea mediante molienda seca o húmeda, debido a que su contenido de almidón es altamente fermentable. Con cada tonelada de maíz se producen aproximadamente 402.4 litros de etanol y 312.5 kg de DDGS. Entre el 2002 y 2009 el crecimiento fue acelerado, el uso de maíz para producción de etanol en molienda seca se incrementó de 13.8 a 103.1 millones de toneladas, esto es un 649.2% (Financiera Rural, 2011).

Los biocombustibles son recursos energéticos procesados por el ser humano a las cuales se les denomina "biomasa". Pueden ser líquidos, sólidos o gaseosos, y su finalidad última es liberar la energía contenida en sus componentes químicos mediante una reacción de combustión. Existen varios tipos de biocombustibles, a los cuales se les clasifica de acuerdo al insumo o materia prima y a la tecnología empleada para producirlos. Algunos de los insumos son de procedencia agrícola y están conformados por las partes alimenticias de las plantas, las cuales tienen un alto contenido de almidón, azúcares y aceites.

Los biocombustibles son producidos empleando tecnología convencional como la fermentación (para azúcares y carbohidratos), transesterificación (para los aceites y grasas), y la digestión anaerobia (para los desperdicios orgánicos). De estos procesos se obtiene etanol, metanol y n-butanol (a partir de azúcares), biodiesel (a partir de los aceites), y biogás (mezcla de metano y anhídrido carbónico, también conocidos como gas natural y dióxido de carbono respectivamente, obtenida a partir de los desperdicios orgánicos).

Las ventajas de estos biocombustibles son su facilidad de procesamiento, sus bajas emisiones de gases de efecto invernadero (Álvarez, 2009). El etanol es la materia prima de numerosos productos, como acetaldehído, éter etílico y cloroetano. Se utiliza como anticongelante, aditivo alimentario y medio de crecimiento de levaduras, en la fabricación de revestimientos de superficie y en la preparación de mezclas de gasolina y alcohol etílico (Financiera Rural, 2011).

6.2 Técnica de Orskov (Bolsa de dacrón)

Esta técnica funciona suspendiendo bolsas de nylon en el rumen, que contengan el tipo de muestras a las que se les tiene que determinar la desaparición de materia orgánica y proteína cruda a diferentes intervalos de tiempo.

El nitrógeno que desaparece de las bolsas es equivalente a la proteína que es degradada.

La técnica *in situ* proporciona información confiable. Acerca de las estimaciones de la degradabilidad *in Vitro* para varios tipos de alimento; sin embargo su popularidad ha estado sujeta a extensas críticas y evaluaciones.

Factores que afectan los resultados obtenidos con la técnica *in situ*:

- ✓ Porosidad de la bolsa. La porosidad (abertura de la bolsa) de 40 a 60 micras parece ser un punto adecuado con respecto al flujo microbial y de líquidos.
- ✓ Tamaño de muestra. Para decidir el tamaño de muestra se debe tomar en cuenta dos aspectos: una cantidad suficiente de muestra ya que debe quedar para el análisis después de los periodos de incubación, pero la cantidad de muestra no debe ser tan grande para que retrase el mezclado instantáneo de las partículas del alimento y el líquido ruminal.
- ✓ Tamaño de partícula de la muestra. Hasta donde sea posible, el material deberá aparecer en el rumen como éste es consumido por el animal.
- ✓ Efectos de la dieta. La dieta puede tener un efecto definitivo en la tasa de degradación del material que es incubado; por ejemplo, los animales que son alimentados con una dieta de concentrados, la actividad de microorganismos que degradan la celulosa se reduce considerablemente.

- ✓ Contaminación microbial. Uno de los problemas más serios de la técnica *in situ* es el medir el grado de contaminación microbial de los residuos incubados.
- ✓ Efecto del lavado. El lavado de las bolsas después de la incubación en el rumen tienen como objetivos principales detener la actividad microbial, y eliminar todas las partículas adheridas a la bolsa, debido al líquido ruminal.

Los alimentos que son consumidos por los rumiantes se acumulan en el rumen, donde son fraccionados por mecanismos físicos, como la rumia; luego, los microorganismos del rumen los degradan y después de un periodo de estancia pasan del rumen al omaso a través del orificio reticulo-omasal.

La evaluación de la cantidad de proteína y materia orgánica que los microorganismos del rumen degradan, es muy importante para calcular la proteína a suplementar. Los microorganismos del rumen necesitan un balance (sincronización) de energía y proteína y la forma de evaluarlos es por medio de la relación materia orgánica digestible y proteína. En este caso el porcentaje de la materia orgánica digestible (MOD) representa la energía digestible contra el porcentaje de proteína del forraje (Villalobos 2000).

HAY TRES LIMITACIONES IMPORTANTES.

- ✓ En primer lugar, puesto que la muestra se confina dentro de la bolsa no se expone a ninguna interrupción debido a la masticación y a la rumia.
- ✓ En segundo lugar el alimento analizado normalmente podría dejar el rumen una vez que el tamaño de partícula es conveniente.
- ✓ En tercer lugar, debe ser recordado que, en sentido estricto, que se mide realmente está la interrupción del material a un tamaño bastante pequeño para dejar la bolsa y no necesariamente una degradación completa a los compuestos químicos simples.

TRATAMIENTO Y PREPARACION DE MUESTRAS

La preparación de las muestras para la incubación es crítica pues deben representar, en la medida, los materiales como aparecerían en el rumen de haber sido consumido por el animal, idealmente, masticados, ingeridos por los animales provistos de una cánula esofágica se puede recoger pero en la práctica el uso de un molino de martillos del laboratorio con cavidad de 2.5 - la pantalla de 3.0 milímetros es adecuada para las alimentaciones secas. Los métodos alternativos para la reducción del tamaño de partícula, tal como tajar, cortar, balanceo y moler, tienen que ser utilizados si los métodos anteriores demuestran ser inadecuados.

TAMAÑO DE MUESTRA

Una reducción en la degradabilidad fue observada por muchos trabajadores, la cantidad más pequeña de muestra necesaria se puede definir como la proporción de material adecuado para el análisis después de la incubación (por ejemplo, de nitrógeno), o posiblemente por la precisión de los equilibrios disponibles para pesar la bolsa y la muestra.

POSICION DEL RUMEN

Balch y Johnson (citados por Orskov y Hovell, 1980) divulgaron que una digestión más rápida fue obtenida cuando las bolsas fueron incubadas en el saco ventral en el rumen del ganado, aunque trabajos más adelante por Erwin y Elliston y Rodríguez (citados por Orskov y Hovell 1980) demostraron que la posición de las bolsas en el rumen tenía poco o ningún efecto en la degradación de los alimentos. No se ha demostrado ninguna reducción en la variabilidad de la desaparición de la MS entre las bolsas se ha demostrado uniendo peso para anclar las bolsas al saco ventral del rumen, pero Rodríguez (citado por Orskov y Hovell, 1980) encontró que la variación entre las bolsas fue reducida cuando fueron unidas a 50 centímetros de secuencia más bien que a 30 centímetros. Él sugirió que la cadena más larga permite el mayor movimiento de las bolsas dentro del rumen, y así reduce al mínimo los efectos de variación en el ambiente del rumen.

TIEMPO DE LA INCUBACIÓN

Mucho de los datos publicados se relaciona con los experimentos en los cuales los investigadores tendían a incubar las bolsas para solamente algunas diversas veces, y procurando relacionar perdidas de la materia seca de las bolsas con la digestibilidad evidente del alimento. Ahora se tiene más interés en medir la velocidad de degradabilidad, lo que requiere un número de medidas de la degradación después de diferentes tiempos. La época total para la degradación completa variara con el material que es incubado, y por lo tanto los tiempos intermedios elegidos también variarían.

COMO GUIA EN LA CURVA

Los concentrados requieren 12-36 horas, buena calidad forrajera 24-60 horas, forrajes de mala calidad 48-72 horas. Estos son los tiempos requeridos casi para alcanzar, la asíntota (degradación potencial).

DIETA DEL ANIMAL

La dieta puede tener un efecto pronunciado en el índice de la degradación del material que es incubado; por ejemplo, los animales con dietas altas de concentrado se encuentra reducida la actividad celulítica en el rumen. La dieta elegida para el animal usado dependerá obviamente del propósito del experimento.

PROCEDIMIENTO DE LA INCUBACION

Las bolsas se hacen de la tela filtrante de nylon. Entonces se atan cerrados con el lazo o por el uso de ligas de polipropileno. Más de una bolsa se puede unir a la misma secuencia, mientras se espacian para evitar interferencia, y la bolsa de la parte superior es por lo menos 40 centímetros por abajo de la tapa de la cánula en ganado. Los lazos entonces unidos a un anillo insertado a través de la tapa de la cánula y las bolsas se empujan bien en el rumen. La identificación de las bolsas en el retiro es a menudo difícil, y es ayudada por la codificación de color de las secuencias.

Una vez extraídos del rumen, la bolsa se mantiene atada por el cuello y se agita vigorosamente en un cubo de agua. El hilo de vinculación se corta entonces (o cordón de aflojar) con el fin de eliminar los residuos atrapados por el material pegado, y la bolsa y el contenido enjuagó con agua corriente hasta que el agua de lavado es clara.

Las Bolsas se secan a continuación a una temperatura constante de 60-70° C, y la pérdida por ciento de materia seca calculado.

Parte de la pérdida de peso puede deberse a una solubilización simple de los constituyentes de la muestra, y también a la pérdida de material en partículas muy finas que se puede eliminar por lavado. Esto es importante, porque hemos encontrado pérdidas de hasta un 20% con hierba seca y bagazo de caña de azúcar finamente molido, y hasta el 60% de la caña de azúcar. Las bolsas se lavan a fondo (en jabón y agua) y una inspección de roturas o agujeros antes de volver a usarla.

APLICACIONES DE LA TÉCNICA

La bolsa en el rumen se puede utilizar para explorar muchas características de los procesos de degradación que ocurren dentro del rumen. No solamente es una herramienta de gran alcance para poner un índice en las degradabilidades relativas de alimentos, si no que también se puede usar para mejorar nuestra comprensión de los procesos de la fermentación del rumen(Orskov y McDonald, 1979).

Alvir et al. (Citados por Bochi-Brum et al. 1999), utilizando la técnica de las bolsas de nylon, observaron que los ritmos de degradación ruminal de diversos alimentos eran más lentos cuando los animales eran alimentados con raciones que incluían concentrado que cuando recibían raciones constituidas exclusivamente por forraje.

La proporción de concentrado en la ración afecta a la digestión ruminal a través de diversos mecanismos, entre los que destacan las modificaciones que produce en el crecimiento y/o actividad de los microorganismos ruminales. Debido a que la

población microbiana ruminal se ve afectada por numerosos factores, la procedencia del inoculo ruminal se considera la mayor fuente de variación en la determinación de la digestibilidad *in vitro* (Bochi-Brum et al. 1999).

6.3 Rumenotomía

RUMENOTOMÍA EN BOVINOS LAPAROTOMIA LATERAL IZQUIERDA, REGION ANTERIOR DE LA FOSA PARALUMBAR

Técnica

Tranquilizantes: Xilazina al 10 %

Anestesia local: Lidocaína al 2 %

Antisepsia: Región torácica lateral, que abarca las cuatro últimas costillas, y fosas paralumbar.

Instrumental: De cirugía general.

Suturas: Catgut simple de los números 1 y 2, catgut crómico atraumático del número 2 y nilón del número 1.

Posición del cirujano: Del lado izquierdo del animal.

Primer tiempo: Incisión de 15 cm de longitud, a 3 cm de la última costilla y paralela a esta; el sitio de comienzo es de 10 cm abajo de las apófisis transversas lumbares; se abarca piel, tejido celular y músculo cutáneo. La hemostasia se hace por pinzamiento y ligadura de los vasos incididos.

Segundo tiempo: Una vez que ha quedado visible el músculo oblicuo externo, el cual tiene sus fibras dirigidas craneocaudalmente y ligeramente ventrales, se procede a incidirlo en toda la longitud de la herida; luego se hace lo mismo con el

oblicuo interno, que está en seguida y tiene sus fibras dirigidas craneocaudalmente y ventrodorsales; inmediatamente después se incide el transverso, que tiene sus fibras dirigidas ventrodorsalmente. Hacia la región craneal se encuentran vasos perforantes provenientes del último par intercostal y hacia la región caudal, los de la arteria circunfleja iliaca; la hemostasis se hace por pinzamiento y ligadura. En el fondo de la herida se ve el peritoneo, de color blanco perlado, el cual se hunde ligeramente por la presión atmosférica. Para incidir el peritoneo, el primer ayudante y el cirujano toman un pliegue con pinzas de Kocher, y lo sostienen para seccionarlo en el centro; la abertura se amplía con tijeras, hacia la región dorsal y ventral, no hay peligro de traumatizar los órganos de la cavidad, porque en esa zona existe un hueco entre ellos y el peritoneo, que facilita incidirlo sin complicaciones

Tercer tiempo: Para mantener abierta la herida se sujetan los bordes con pinzas de Kocher; inmediatamente se ve el saco dorsal del rumen y, ventrocaudalmente, el epiplón y los intestinos. Para exponer el rumen, el cirujano toma un pliegue grande de este, con una compresa, y hace tracción hacia afuera de la herida.

Cuarto tiempo: Fijación del rumen; se quitan los separadores de Gosset, mientras el ayudante sostiene el pliegue del rumen, que ha de salir por lo menos 10 cm a través de toda la herida; enseguida el cirujano fija el rumen a la pared abdominal, de esa manera: con aguja semicurva enhebrada con nilón aplica puntos de sujete no perforantes que abarque serosa y muscular del rumen, con peritoneo parietal y musculo oblicuo y transverso, en todo el borde de la herida

Quinto tiempo: Abertura del rumen; comienza el tiempo séptico; con pinzas de Kocher, ayudante y cirujano toman una porción del pliegue del rumen, para practicar en el centro un corte con bisturí; esta incisión se amplía hacia dorsoventralmente con tijeras, hasta los extremos de la herida

Sexto tiempo: Si se dispone del retractor de weingart no es necesario aplicar puntos para fijar el rumen a la pared, pues basta con sujetar los labios de la herida con los ganchos; si no se tiene el retractor, o no se quiere emplear, se colocan tres pinzas de Kocher en el borde craneal y tres en la caudal, a espacios equidistantes, y se invierten las paredes del rumen hacia afuera, con lo cual se deja ver la mucosa y el contenido del rumen.

Séptimo tiempo: Introducción del brazo en el rumen y en el retículo; primero se coloca la sábana de caucho perforada, para evitar que la herida se contamine con el contenido gástrico; en seguida se introduce el brazo, el cual ha de estar lubricado, de preferencia con vaselina líquida estéril, para llevar a cabo la exploración exhaustiva de los compartimientos gástricos; se prefiere utilizar un guante obstétrico. Terminada esta se retira el brazo y después la sábana de caucho; se limpian los bordes de la herida con una compresa impregnada en solución salina isotónica. Si el cirujano fue el que introdujo el brazo, se quitará los guantes para lavarse con jabón antiséptico, solución de benzal y alcohol. A continuación se pondrá guante estériles para poder continuar con el siguiente tiempo.

Octavo tiempo: Se inicia la sutura de la pared del rumen, comenzando con el ángulo dorsal; se emplea sutura de Connell y catgut crómico atraumático del núm. 1; el primer ayudante auxilia hasta terminar de aplicar los puntos en el extremo ventral en donde se anuda en la forma acostumbrada. La sutura es perforante, y terminada queda en forma de greca oblicua. En seguida se dejan todos los instrumentos que intervinieron en la sección y sutura del rumen; el cirujano y el primer ayudante se cambian guantes; luego se pone polvo de sulfatiazol estéril en la herida.

Noveno tiempo: Se inicia la sutura de Cushing con catgut crómico atraumático del núm. 1, para cubrir la de Connell; la sutura de Cushing no es perforante y comprende solamente serosa y muscular; se empieza un centímetro arriba de

donde se inició la de Connell y con auxilio del primer ayudante se aplican puntos en toda la extensión de la herida, formando la greca recta, hasta terminar un centímetro abajo de donde terminó la de Connell.

Décimo tiempo: Liberación del rumen; se corta el hilo de los puntos de sujeción con los cuales se fijó el rumen a la pared abdominal en diferentes tramos y se quitan las hebras; así el rumen vuelve a su posición normal, entonces puede iniciar la reconstrucción de la pared abdominal.

Décimo primero tiempo: Se aplican puntos de sujeción con catgut crómico del núm. 1, comenzando en el ángulo dorsal de la herida; se abarca peritoneo y músculo transversal; una vez terminado el sujeción, se suturan los músculos oblicuos aplicando puntos en X, con catgut crómico del núm. 1; la reconstrucción de planos se termina con puntos separados de afrontamiento cutáneo, empleando nilón del núm. 1; se aplican a distancia de 1.5 cm entre uno y otro. Se limpian los bordes de la herida con agua oxigenada y se secan con una compresa.

Décimo segundo tiempo: Se coloca el apósito; este consiste en una tira de gasa, de tres capas, de tamaño suficiente para que cubra toda la herida, y se fija con colodión elástico. El apósito y los puntos de sutura de la piel se retiran a los ocho días, si no hay complicaciones (Alexander, 1986).

6.4 Tasa de desaparición

El ecosistema microbiano ruminal está conformado principalmente por especies de bacterias, hongos y protozoos estrictamente anaeróbicos, en cantidades entre 10⁹ y 10¹¹ ufc/mL (Rodríguez, Areadne, 2007).

Las bacterias se encuentran en una gran variedad de géneros y especies por lo menos 28 especies funcionalmente importantes, las cuales se agrupan de acuerdo

a su actividad. La mayoría de las bacterias son anaerobias estrictas, sin embargo también se encuentran presentes organismos facultativos.

CUADRO 1. GRUPO DE GENEROS BACTERIANOS.

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 amoníaco:	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>Bacteriodes ruminicola</i>	
» <i>Selenomonas</i> sp.	
» <i>Ruminococcus bromii</i>	
» <i>Butyrivibrio</i> sp.	
» <i>Treponema</i> sp.	

(Nava y Díaz, 2001).

La literatura reconoce que la comunidad microbiana ruminal tiene gran capacidad proteolítica pero ninguna especie en particular es responsable de esta capacidad o la determina la degradación de las proteínas en el rumen depende de la conjugación de tres procesos catabólicos: la proteólisis, la péptidólisis y la desaminación. Las proteasas bacterianas son enzimas endo y exopeptidasas, unidas a las células, pero localizadas en la superficie celular para tener mayores posibilidades de interacción con los sustratos. Estas exoenzimas no parecen estar sujetas al control metabólico. Sin embargo, por su localización, cualquier factor que afecte el número o actividad metabólica de los microorganismos influirá en la actividad proteolítica. La acción sinérgica de diferentes tipos de proteasas produce

péptidos y aminoácidos. Los protozoos desempeñan un papel importante por su capacidad para frenar la digestión de los sustratos que se fermentan con rapidez, como el almidón y algunas proteínas. Esto es posible ya que los protozoarios engloban al almidón y a las proteínas almacenándolos y protegiéndolos de la acción bacteriana. Además, suministran considerables cantidades de proteína soluble al ambiente ruminal, debido a la capacidad que poseen para degradar la proteína insoluble de las fracciones de alimento englobado ya que no pueden utilizar el N amoniacal.

Los factores más importantes que afectan la degradación microbiana de las proteínas de la dieta son el tipo de proteína, las interacciones con otros nutrientes, principalmente los compuestos energéticos y la población microbiana predominante, la cual depende del tipo de ración, la tasa de pasaje y el pH ruminal (Rodríguez, Areadne, 2007).

La degradación de proteína ha sido definida como una función del tiempo cuando se utilizan técnicas *in vitro*, *in situ* o enzimas proteolíticas. La mayoría de los datos se adaptan a un modelo general con tres fracciones:

A= NNP (nitrógeno no proteico) o proteína que es degradada bastante rápido.

B= Proteína que es degradada a una velocidad similar a la tasa de pasaje.

C= Proteína no degradable o que puede ser degradada muy lentamente.

El medir la degradación de proteína por los microorganismos del rumen es difícil, puede haber una gran variación en la degradación de la proteína entre y dentro de los mismos alimentos. Hay varias fuentes de error analítico, una de las más importantes es el distinguir entre proteína bacteriana y la proteína que no es degradada.

Para determinar más correctamente la proteína degradable y la no degradable de la fuente del alimento, los valores de degradabilidad deberán determinarse bajo las condiciones alimenticias y fisiológicas a las que van a ser aplicadas. En

general es de esperarse que la técnica *in situ* sea más sensible a los cambios en las concentraciones ruminales de amoníaco que las técnicas *in vitro*. Por lo tanto, la técnica *in situ* tiene ventajas para utilizarse en pruebas o investigaciones de suplementación proteica. La colonización bacteriana en el residuo se incrementa linealmente con el tiempo de incubación. Estos datos sugieren que las bacterias normalmente se adhieren a partículas de la dieta hasta un tiempo determinado, después de esto, es función de sitio de adhesión disponible, o de la disponibilidad de sustratos.

En cuanto a la disponibilidad ruminal, existen al menos tres fracciones en las proteínas que pueden ser definidas como degradadas rápidamente, degradadas lentamente, y aquéllas que no se degradan.

Estas son comúnmente conocidas como fracciones, A, B, y C respectivamente. En el caso de la proteína, la fracción que es degradada rápidamente incluye no solamente nitrógeno no proteico, sino también proteína que es degradada rápidamente.

Existen varios modelos matemáticos para estimar estas fracciones. La técnica de la bolsa de nylon (*in situ*) puede utilizarse para estimar las fracciones que son degradables en el rumen, así como para estimar la tasa de degradación de la proteína; sin embargo, la tasa de degradación de la fracción que es degradada rápidamente no puede estimarse con la técnica *in situ*, debido a que el tiempo de incubación en los estados iniciales de la degradación no es suficiente para estimar esta tasa con exactitud.

La fracción que es potencialmente degradada, normalmente se ha descrito como una constante cinética de primer orden. La primera suposición es que los contenidos que se examinan son homogéneos y que el sustrato que queda será degradado como una función lineal de tiempo en el rumen (Villalobos et al, 2000).

Cuando se combinan con cambios en el cálculo del porcentaje de la digestión en el rumen, la técnica de la bolsa en el rumen también ofrece la posibilidad de obtener cálculos cuantitativos de la verdadera degradabilidad dentro del rumen.

En el primer periodo, el origen de una variedad de proteína fue incubada en el rumen de ovejas y bovinos, y la curva de la degradación como pérdida de porcentaje de materia seca y nitrógeno planeado en la variable dependiente, y tiempo en horas en la variable independiente. En este caso, el porcentaje de materia degradada "p" después un tiempo T horas puede ser descrito por la ecuación:

$$p = a + b (1 - e^{-ct})$$

Cuando a, b y c son constantes, así tenemos varios términos:

p = la degradación real después del tiempo ' t'.

a = la intercepción de la curva de la degradación en el tiempo cero.

Esto representa el componente de la proteína degradada rápidamente concerniente a la degradación del componente descrito por b (1 - e^{-ct}).

b = el componente potencial de degradabilidad de la proteína que, en tiempo, será degradada.

c = la tarifa constante para la degradación de b

La degradabilidad total de la muestra se da por a + b que no pueda exceder obviamente de 100. Sigue que 100 - (a+b) representa la fracción que aparecerá y será indegradable en el rumen.

El conocimiento de la digestibilidad de los alimentos es básico para establecer su valor nutritivo y, por tanto, para la formulación de raciones para los animales rumiantes (Orskov y McDonald, 1979).

7. MATERIALES Y MÉTODOS

MODIFICACION DE LA TÉCNICA RUMENOTOMIA EN BOVINOS

Para aplicar la técnica de Orskov y poder medir algunos de los parámetros nutricionales de los DDG'S fue necesario un bovino con fistula ruminal

permanente y para ello realizamos una modificación de la técnica rumenotomía en bovinos. El primer paso a realizar es dietar al animal con un tiempo mínimo de 8 horas, después de esto al momento de realizar la cirugía se utiliza como tranquilizante xilazina al 10% por vía intravenosa en la vena coxígea como lo muestra la figura 3a una dosis de 0.01 mg/kg a este bovino se le aplicaron 3 mg que corresponde a 0.03 ml.



Figura 3. Aplicación de tranquilizante.

Una vez tranquilizado el animal se procede a marcar el área donde se va a incidir, esto se realiza utilizando el tapón de la cánula como plantilla por la parte gruesa que se pone al centro del ijar del lado izquierdo que es donde se encuentra el rumen y con aluspray se marca quedando así la circunferencia que se va a incidir, como se muestra en la figura 4 y 5.



Figura 4. Marcado de la circunferencia.



Figura 5. Circunferencia para incidir.

Ya marcada la circunferencia se procede a la infiltración subcutánea de anestesia local la cual fue lidocaína al 2% como lo muestra la figura 6 hasta quitar por completo la sensibilidad de esta zona.



Figura 6. Aplicación de anestesia local en forma subcutánea.

Una vez que la anestesia local hace efecto se procede a incidir la piel en forma de la circunferencia ya antes marcada como se muestra en la figura 7 y 8.



Figura 7. Incisión de piel.



Figura 8. Incisión de piel de acuerdo a la circunferencia marcada.

Una vez retirada la piel se procede a quitar tejido adiposo si es abundante y si no se incide el musculo oblicuo abdominal externo, la incisión se realiza de acuerdo a las fibras musculares de éste como se muestra en la figura 9.



Figura 9. Incisión del musculo oblicuo abdominal externo.

Ya incidido el musculo oblicuo abdominal externo se procede a incidir el musculo oblicuo abdominal interno tomando como referencia las fibras musculares de éste, al terminar de incidir este musculo podemos observar peritoneo, este también se incide teniendo cuidado de no incidir rumen, como lo muestra la figura 10.



Figura 10. Incisión del musculo oblicuo abdominal interno.

Expuesto rumen se procede a hacer un punto de sujeción incliyendo músculos y peritoneo como lo muestra la figura 11.



Figura 11. Punto inicial de fijación.

Terminado este punto de sujeción se procede a incidir rumen, para esto con unas pinzas hemostáticas se toma a rumen cuando no está en movimiento y se retrae hacia afuera como se muestra en la figura 12.



Figura 12. Retracción de rumen con pinzas homeostáticas.

Se hace una incisión del rumen sin soltarlo de aproximadamente una pulgada, como se muestra en la figura 13, si se presenta hemorragia se controla con presión o pinzas hemostáticas y de ser necesario se utiliza ligadura.



Figura 13. Incisión de rumen.

Ahora expuesto el rumen se procede a suturar con puntos separados alrededor de la herida abarcando piel, músculos oblicuos tanto externo e interno, fascia

muscular, peritoneo y rumen como se muestra en la figura 14 y 15 para la realización de estos puntos se utilizó hilo de algodón de calibre 1-0, (como el hilo es de algodón entonces no es necesario retirar los puntos ya que pueden ser degradados por la mismas bacterias del rumen) y una jeringa con aguja de calibre 18, para facilitar el trabajo al momento de atravesar piel ya que es muy gruesa.



Figura 14.Utilización de agujón para suturar.



Figura 15.Aplicación de suturas con puntos separados.

Una vez terminado el proceso de suturar se observa la circunferencia expuesta como lo muestra la figura 16.

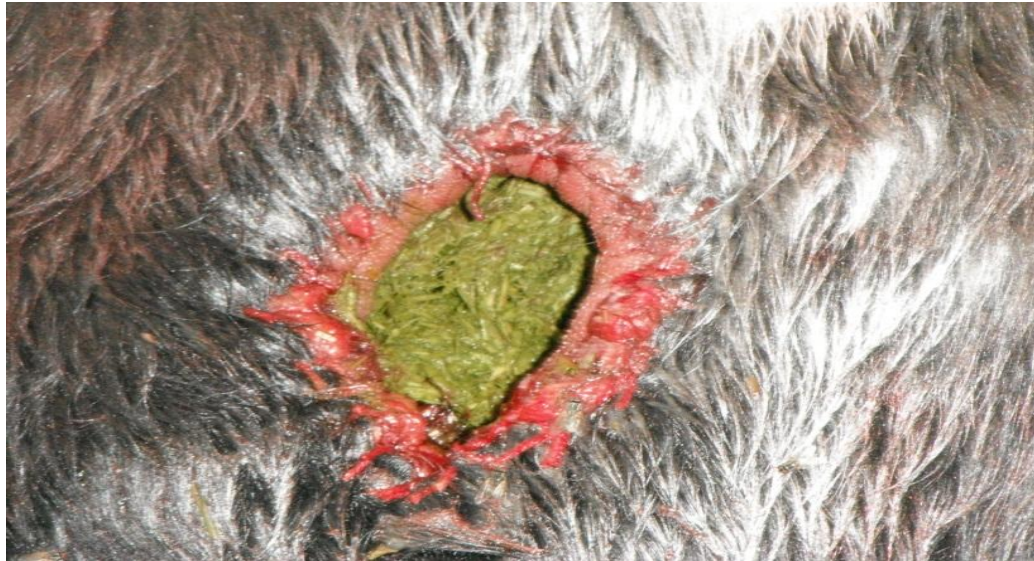


Figura 16. Fistula ruminal terminada.

Se procede a realizar la asepsia tratando de eliminar toda la sangre que se encuentre presente como lo muestra la figura 17 ya que esto atrae a las moscas y facilita infecciones.



Figura 17. Asepsia de la herida.

Terminada la asepsia se utiliza promotores de la cicatrización como lo muestra la figura 18 y 19 en este caso se utilizó aluspray.



Figura 18. Aplicación de promotores de la cicatrización.



Figura 19. Fistula ruminal expuesta con aluspray

Al momento de poner la cánula se tiene que dejar reposar 5 minutos en agua caliente con la finalidad de que se ablande y se facilite su manejo, para insertarla en el rumen del animal se toma la cánula y se trata de invertir solo la mitad de esta una vez hecho este proceso se pone en rumen y la mitad que se invirtió anteriormente se empuja hacia adentro del rumen como lo muestra la figura 20.



Figura 20. Colocación de la cánula ruminal.

Una vez colocada la cánula se procede a revisar el pliegue que quedó dentro del rumen para sentir si no quedó alimento atrapado entre la cánula y el rumen, como lo muestra la figura 21, si es así se procede a sacarlo.



Figura 21. Revisión de la cánula por dentro.

Terminado el paso anterior se pone el tapón de la cánula recordando que el borde grueso queda hacia adentro como lo muestra la figura 22.



Figura 22. Colocación del tapón de la cánula.

Y el borde delgado queda cubierto con la pestaña de la cánula como lo muestra la figura 23 y 24.



Figura 23. Colocación de la pestaña de seguridad de la cánula.



Figura 24. Cánula colocada de forma correcta.

Una vez terminada la técnica el pos operatorio consiste en la aplicación de un antibiótico de amplio espectro en forma tópica y promotores de la cicatrización diario hasta que haya formación de tejido fibroso como lo muestra figura 25 y 26.

En cuanto a la alimentación se le quita los granos que se le están dando y se mantiene con alfalfa por 3 días, pasados estos se regresa a su alimentación normal en forma paulatina.



Figura 25. Fistula con formación de granulomas pre cicatrización.



Figura 26. Cicatrización correcta con formación de tejido fibroso.

UTILIZACION DE LA TÉCNICA DE ORSKOV (BOLSA DE DACRON)

Lo primero que se realizó es la limpieza de la bolsas de nylon comose muestra en la figura 27 y 28, esto se realiza con agua corriente solamente ya que si se utiliza jabón puede tapar los poros de esta y no permitiría la entrada y salida de las bacterias ruminales.



Figura 27. Lavado de la bolsa de nylon.



Figura 28. Al lavarse la bolsa muestra la porosidad dejando salir agua.

Una vez limpias las bolsas se procede a pesar la muestra de DDG'S a incubar como lo muestra la figura 29, el peso dependerá del tiempo a incubarse, ya que se

manejaron tiempos de 0, 4, 8, 12, 24, 48, 72, 96 y 120 horas posprandial, teniendo mayor peso en muestras con mayor tiempo de incubación.



Figura 29. Peso de la muestra a incubar.

La muestra de DDG´S es introducida a la bolsa de nylon y con la utilización de una liga y un aro se procede a amarrarlo como lo muestra la figura 30, el aro es con la finalidad de poder colgar la bolsa al ancla ruminal.



Figura 30. Bolsa con DDG´S amarrada para incubarse

Ya lista la bolsa a incubar se procede a colocarlas en el ancla ruminal como se muestra en la figura 31, poniendo las muestras con mayor horas de incubación en la parte final de la cánula y las de menor tiempo de incubación en la parte inicial.



Figura 31. Colocación de bolsas en ancla ruminal.

En la figura 32 se muestra el ancla preparada con las muestras lista para meterse al rumen.



Figura 32. Ancla ruminal con todas las muestras a incubar.

A través de la cánula ruminal se introduce el ancla con las muestras a incubar como se muestra en la figura 33.



Figura 33. Introducción de las muestras en rumen a través de la cánula.

En la figura 34 se observa la obtención de la primera muestra incubada que corresponde a la hora cero y en la figura 35 se observa la obtención de muestras siguientes, una vez sacada del rumen el siguiente paso es enjuagarla con agua corriente hasta que quede libre de líquido ruminal esto es cuando el agua salga cristalina.



Figura 34. Obtención de la primera muestra incubada que corresponde a la hora cero.



Figura 35. Obtención de muestras subsecuentes a la hora cero.

Una vez introducida el ancla ruminal con las muestras a incubar solo queda afuera una pequeña porción de hilo y un pedazo de madera que no permite que el hilo sea jalado por los movimientos ruminales como lo muestra la figura 36 y así poder tener un mejor control sobre las muestras.



Figura 36. Animal con muestras en procesos de incubación.

UTILIZACION DE LA TÉCNICA PARA DETERMINACIÓN DE NITROGENO

Una vez obtenidas las muestras se procede a meterlas a la estufa a una temperatura constante de 70° C para retirar la humedad, terminado este paso se sacan de la bolsa de nylon y se pasan a una bolsa de plástico para facilitar el manejo de identificación de la muestra incubada del matraz micro kjeldahl como se muestra en la figura 37.

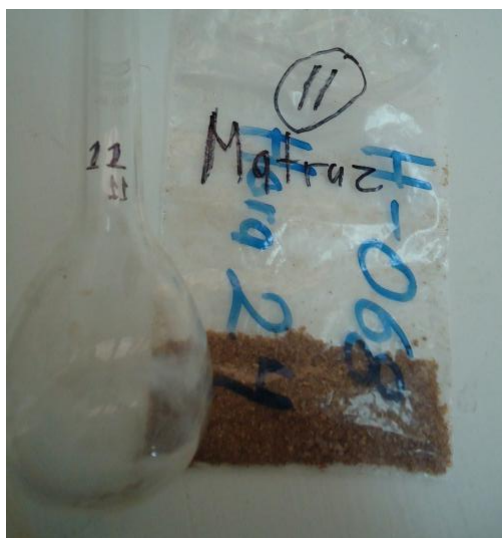


Figura 37. Identificación de muestra incubada así como matraz micro kjeldahl para meter la muestra a pre digestión.

Para el procedimiento de esta técnica se pesa 0.1g de muestra y se coloca en un matraz micro kjeldahl como lo muestra la figura 38, se adicionan 4 ml de una mezcla de ácido sulfúrico y salicílico cuidando que esta no quede en las paredes del micro matraz como lo muestra la figura 39 y se agita suavemente para lograr una mezcla homogénea, terminado esto se deja en reposo (predigestion) por lomenos 6 horas.



Figura 38. Peso de la muestra para pre digestión.



Figura 39. Adición de ácido sulfurico-salicilico a la muestra.

Terminado el proceso de pre digestión se procede a añadir 0.5 gramos de tiosulfito de sodio y se calienta cuidadosamente de 5-15 minutos hasta que cese la formación de espuma, se debe de evitar que esta suba por el cuello del matraz como lo muestra la figura 40.



Figura 40. Muestras con tiosulfito de sodio calentándose y formación de espuma.

Una vez terminada esta fase se adiciona 1.1 gramos de mezcla catalizadora, se digiere nuevamente y se aumenta la temperatura la cual debe ser 360°C y 390°C como lo muestra la figura 41, temperaturas inferiores o superiores representan pérdidas de nitrógeno. Después de una corta ebullición la muestra se aclara como lo muestra la figura 42, cuando se alcanza este punto se ebulle lentamente por una hora adicional.



Figura 41. Digestión a una temperatura de $360\text{-}390^{\circ}\text{C}$.



Figura 42. Muestra aclarada y en ebullición por una hora.

Una vez cumplido el tiempo de ebullición se deja enfriar la muestra para proseguir con el proceso de destilación en el cual se pasa la muestra al bulbo de la cámara de destilación del aparato, se enjuaga el micro matraz kjeldahl con agua destilada y se vierte al bulbo para tener aproximadamente 7 ml, se coloca un vaso de precipitados en el tubo de salida del aparato de destilación, este matraz debe contener 10 ml de ácido bórico. Se adicionan 10 ml hidróxido de sodio al bulbo de destilación, se conecta el flujo de vapor y se inicia la destilación. Se destilan aproximadamente 50 ml como lo muestra la figura 43 y se lava el condensador para la muestra siguiente.



Figura 43. Aparato de destilación procesando una muestra.

Completados los 50 ml de muestra destilada se procede a vertir la solución del vaso de precipitado a un matraz como lo muestra la figura 44 para realizar la

titulación agregando ácido sulfúrico 0.50 N y para esto se sugiere utilizar una microbureta de 10 ml con graduaciones de 0.02 ml como lo muestra la figura 45. El punto de equivalencia de titulación ocurre cuando la solución varía de verde a rosa como lo muestra la figura 46.



Figura 44. Pasando la muestra destilada del vaso de precipitado al matraz.



Figura 45. Agregando ácido sulfúrico 0.05 N con una microbureta de 10 ml con graduaciones de 0.02 ml.



Figura 46. Logrado el punto de equivalencia ya que la muestra pasó de verde a rosa.

Para los cálculos se determina el porcentaje de N nitrógeno en la muestra como lo indica la siguiente formula:

$$N\% = (V \text{ muestra} - V \text{ blanco}) N \text{ acido } (.050)(14) / \text{ peso de la muestra} \times 10$$

Dónde:

V muestra= volumen de H_2SO_4 para titular la muestra (ml)

V blanco= volumen de H_2SO_4 para titular el blanco (ml)

N= normalidad exacta de H_2SO_4

8. RESULTADOS

CUADRO 2. PORCENTAJES DE LA PROTEÍNA POSTPRANDIAL DE LOS DDG'S.

HORA POSTPRANDIAL	PORCENTAJE DE PROTEÍNA DESAPARECIDA
0	87.06
4	88.58
8	86.37
12	86.99
24	86.78
48	89.54
72	90.84
96	85.61
120	84.29

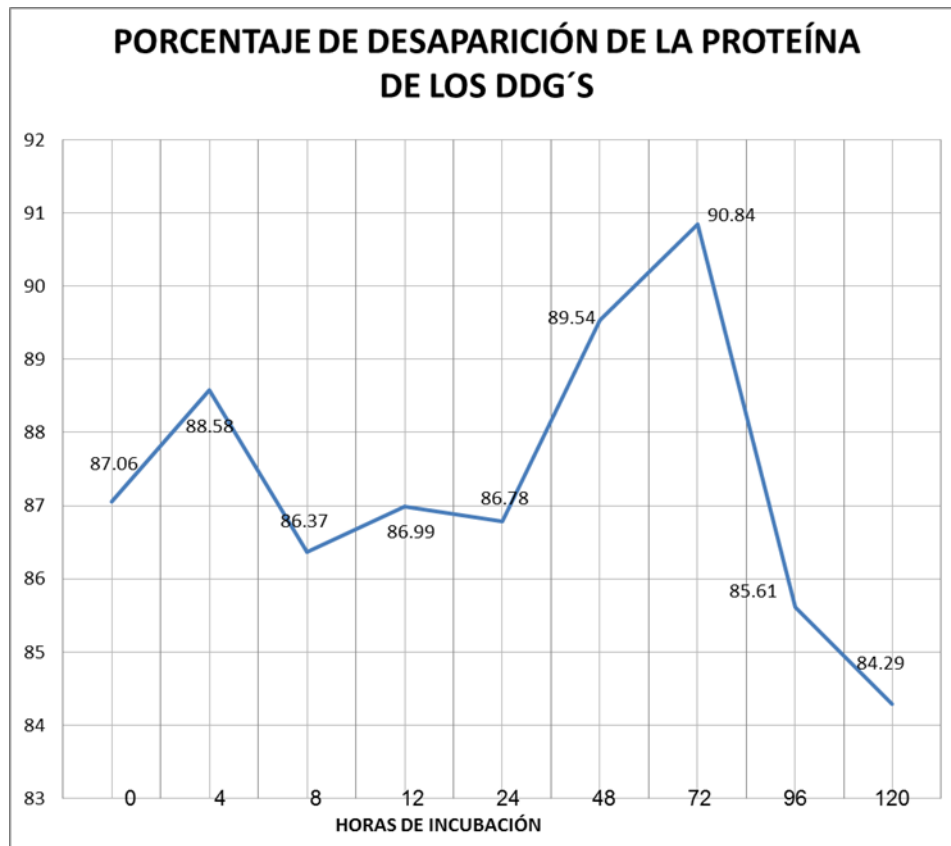


Figura 47. Porcentaje de desaparición postprandial de la proteína de los DDG'S.

9. DISCUSIÓN

La alta tasa de desaparición de la proteína en la hora 0 que corresponde al 87.06 % se debe a la gran cantidad de enzimas y bacterias que contienen el DDG, que son proteínas de rápida degradabilidad y alcanzan su máxima desaparición en la hora 4 que es de un 88.58 %, posteriormente baja en la hora 8 al 86.37 %, que es cuando las bacterias ruminales terminaron con la proteína altamente degradable y vuelve a subir la degradabilidad en la hora 12 a un 86.99 %, debido a que en el proceso de la obtención del etanol se usa enzimas que solo fermentan el 80 % de azúcares ya que el otro 20% restante contiene cadenas de azúcares que no pueden fermentarse con las levaduras que se le adicionan, es por ello que presenta degradabilidad de la proteína en la hora 12 ya que es el tiempo que tardan las bacterias ruminales en reconocer y atacar a la proteína de baja degradabilidad.

10. CONCLUSIÓN

En base a lo observado en el cuadro número 2 se obtuvieron altas tasas de desaparición de la proteína de los DDG postprandial, debido a la alta concentración proteica de estos. Estas altas tasas de desaparición se observan en la hora 0 con un 87.06 %, en la hora 4 con un 88.58 %, en la hora 8 con un 86.37 %, y en la hora 12 con un 86.99 % de la proteína, estos porcentajes de desaparición se logran por la actividad bacteriana en el rumen, estos datos son los más relevantes del presente trabajo ya que en forma natural es el tiempo que estarían expuestos los DDG a la actividad bacteriana.

11. LITERATURA CITADA

- Alexander Hernandez, Alfonso. 1986. Técnica Quirúrgica en Animales y Temas de Terapéutica Quirúrgica. 6ª ed. Ed Interamericana McGraw-hill.
- Álvarez Maciel Carlos. 2009. Biocombustibles: Desarrollo Histórico-Tecnológico, Mercados Actuales y Comercio Internacional. UNAM.núm. 359.
- Barragán Ramírez José Luis, Martín del Campo Magallanes Carina Melisa, Peña Acosta Luis Carlos, Robles Olivares Juan Pablo, Patricio Severiano Martínez, Jiménez Plasencia Cecilia, Hernández Góbora Jorge, De Lucas Palacios Ernesto y Reyes Velázquez Waldina Patricia. 2008. Utilización de Granos Secos de Destilería con Solubles (DDGS) en la Alimentación Animal. Departamento de Salud Pública, División de Ciencias Veterinarias, Cuba.
- Bochi-Brum, O., M.D. Carro, C. Valdés, J.S. González y S.López. 1999. Digestibility of Forages and Concentrates: Effect of the Diet of Donor Animals. Departamento de Producción Animal. Universidad de León España.
- C. de Blas, G.G. Mateos y P.G. Rebollar. 2007. DDGS de Maíz (Granos de Destilería, DDG, y Solubles, DDS). Universidad Politécnica de Madrid, España.
- G. Shurson, M. Spiels y M. Whitney. 2005. El uso de granos secos de destilería con solubles de maíz en dietas para cerdos. Department of Animal Science, University of Minnesota, St. Paul, USA.
- <http://www.facmed.unam.mx/deptos/salud/censenanza/spivst/2012/104-03.pdf>
- [http://www.financierarural.gob.mx/informacionsectorrural/Documents/Monografias/Monograf%C3%ADaGranosDestil\(jul2011\).pdf](http://www.financierarural.gob.mx/informacionsectorrural/Documents/Monografias/Monograf%C3%ADaGranosDestil(jul2011).pdf)
- Nava, C.; Díaz, C. 2001. Introducción a la Digestión Ruminal. Departamento de Nutrición Animal. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia UNAM.
- Orskov, E R y Hovell. F D, 1980. The Use Of The Nylon Bag Technique For The Evaluation Of Feedstuffus. Tropical Animal Production, pag 195- 213.
- Orskov, E.R. y McDonald I. 1979. The Estimation Of Protein Degradability In The Rumen From Incubation Measurements Weighted According To Rate Of Pasaje. Journal of Agricultural Science Cambridge. 92 499- 503.
- Rodríguez, R.; Sosa, Areadne; Rodríguez, Yeni. 2007. La síntesis de proteína microbiana en el rumen y su importancia para los rumiantes Revista Cubana de Ciencia Agrícola, vol. 41, núm. 4, pp. 303-311 Instituto de Ciencia Animal La Habana, Cuba.

Scheidegger, Arturo. 2008. Subproducto del Biocombustible: Cómo Usar los DDGS Infortambo, Bs. As., 230:38-39.

Villalobos, C.; Gonzalez, E.; Ortega, J. 2000. Tecnicas para Estimar la Degradation de Proteina y Materia Organica en el Rumen y su Importancia en Rumiantes en Pastoreo. Tec Pecu Mex. Pag. 119-134.