

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO



DIVISIÓN DE CIENCIA ANIMAL

DEPARTAMENTO DE PRODUCCIÓN ANIMAL

Concentración de Ácidos Grasos Volátiles en Líquido Ruminal de
Ovinos Texel Alimentados con Diferentes Niveles de Levadura y
Masilla de Cerveza

Por

Marcos Iván García Martínez

Tesis

Presentada como requisito parcial para obtener el título de:

Ingeniero Agrónomo Zootecnista

Buenavista, Saltillo, Coahuila, México
Septiembre, 2009

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA
“ANTONIO NARRO”**

DIVISIÓN DE CIENCIA ANIMAL

DEPARTAMENTO DE PRODUCCIÓN ANIMAL

Concentración de Ácidos Grasos Volátiles en Líquido Ruminal de Ovinos
Texel Alimentados con Diferentes Niveles de levadura y Masilla de Cerveza

Por

Marcos Iván García Martínez

Tesis

Que somete a consideración del Honorable Jurado Examinador como
requisito parcial para obtener el título de

Ingeniero Agrónomo Zootecnista

APROBADA

PhD. Jesús M. Fuentes Rodríguez
Presidente del Jurado

M.C. Gerardo Montero Almora
Asesor

Dr. Fernando Ruíz Zarate
Asesor

Ing. Rodolfo Peña Oranday
Coordinador de la División de Ciencia Animal

Universidad Autónoma Agraria
“ANTONIO NARRO”



COORDINACIÓN DE
CIENCIA ANIMAL

Buenavista, Saltillo, Coahuila, México
Septiembre, 2009

AGRADECIMIENTOS

A Dios, por darme la vida, salud y la fuerza para estudiar y llegar a formarme como un profesionalista.

A mis padres, Agustín García Martínez y Emma Martínez Mendoza por todo su apoyo y confianza para realizar mi carrera profesional. Gracias por darme la vida. Y gracias por compartir mis sueños. Los quiero mucho.

A la UNIVERSIDAD AUTONOMA AGRARIA ANTONIO NARRO por darme la oportunidad de recibirme en su seno y me cobijo en su regazo. Quien me dio la oportunidad de realizar una carrera profesional, me brindo todos los servicios. Gracias.

Al PhD. Jesús M. Fuentes Rodríguez, con el más sincero agradecimiento, respeto y admiración por su valiosa colaboración en la elaboración y realización de este trabajo, así como todos sus consejos y su amistad que siempre me brindo.

Al Dr. Fernando Ruíz Zarate por su participación y apoyo en la realización final de todo el proyecto, por su amistad y sus consejos como maestro y amigo. Gracias

Al M.C. Gerardo Montero Almora por toda su ayuda brindada para la elaboración de este trabajo, y a quien le estoy inmensamente agradecido porque contribuyo de una manera muy especial con sus consejos y apoyos para poder salir adelante.

Al Ing. Ricardo Alcázar por facilitar los animales con los cuales se trabajo y por la confianza brindada.

A mis compañeros y amigos Toribio Márquez Hernández y Ricardo Alberto Sánchez Tapia, con quienes realice este trabajo y que gracias a ellos y apoyándonos siempre pudimos salir adelante formando siempre un gran equipo de trabajo.

Al T.L.Q. Carlos Alberto Arévalo Sanmiguel por su apoyo y ayuda para la realización de la tesis.

A la Cervecería Cuauhtémoc Moctezuma, por el apoyo brindado para la realización del proyecto.

A todos mis maestros que me dieron enseñanza, amistad y sabios consejos para salir adelante en todas mis etapas educativas, por lo cual les brindo mis más sinceros agradecimientos...

DEDICATORIAS

A mis padres, Agustín García Martínez y Emma Martínez Mendoza por darme todo su apoyo y confianza para realizar mi carrera profesional.

A mi hermano Agustín García Martínez que siempre ha estado a mi lado y me ha apoyado para salir adelante.

A Miriam Zepeda Lovera que me ha brindado apoyo, entusiasmo para salir adelante, amor, cariño, confianza y respeto y quien ha estado conmigo en momentos de felicidad y tristeza en estos ya más de tres años de noviazgo.

A todos mis tíos y tías que siempre me han alentado a salir adelante y a los que siempre he querido mucho y respetado.

A todos mis primos y primas que siempre me han apoyado y con quienes siempre he convivido en muchísimos momentos de mi vida.

A todos mis familiares, amigos y maestros, que gracias a su apoyo, llegue a una de mis metas más importantes de mi vida.

A la Sra. Rosy que me abrió las puertas de su casa y me brindó toda la confianza al tratarme como un miembro más de la familia, y de quien voy estar inmensamente agradecido toda la vida... GRACIAS....

A todos mis amigos y compañeros de la generación CVI de la especialidad de Zootecnia, especialmente a: Héctor Moctezuma (Chuma), Agustín (Arellano), Ricardo (Jarocho), Toribio (Toro), Arely (Are), Ana (Anita), Virginio (Bombín), José Manuel (More), Ramón (Sami), Luis Eduardo (Cuizo), Carlos (Machín), René (Colomo), Toño (Danonino), Gilder (DJ), Abel (Abel), Adrian (Chilango).... Y a todos aquellos con quien conviví alguna vez...

ÍNDICE

AGRADECIMIENTOS.....	iii
DEDICATORIAS.....	v
ÍNDICE DE CUADROS.....	viii
ÍNDICE DE FIGURAS.....	ix
RESUMEN.....	x
1. INTRODUCCIÓN.....	1
Objetivo.....	2
Hipótesis.....	2
2. REVISIÓN DE LITERATURA.....	3
2.1. Importancia de la alimentación en la producción animal.....	3
2.2. Alimentación animal con cebada.....	4
2.3. Subproductos de la cebada.....	4
2.3.1. Subproductos de la industria cervecera.....	4
2.4. Levadura de cerveza.....	5
2.4.1. Características de las levaduras (<i>Saccharomyces cerevisiae</i>)....	6
2.5. Masilla.....	9
2.6. Ácidos Grasos Volátiles (AGV).....	10
2.6.1. Producción de ácido acético.....	13
2.6.2. Producción de ácido propiónico.....	13
2.6.3. Producción de ácido butírico.....	13
2.6.4. Biosíntesis de los ácidos grasos volátiles.....	14
2.6.5. Interconversión de los ácidos grasos volátiles.....	14
2.6.6. Absorción de los ácidos grasos volátiles.....	14
2.6.7. Factores que afectan la producción de ácidos grasos volátiles...	16
2.7. Cromatografía de fase gaseosa – fase líquida.....	18
3. MATERIALES Y METODOS.....	20
3.1. Localización del área de estudio.....	20
3.2. Animales utilizados	20
3.3. Alimentación.....	21

3.4. Tratamientos.....	23
3.5. Materiales de recolección de muestras (liquido ruminal).....	23
3.6. Recolección de muestras.....	24
3.7. Materiales utilizados para el análisis de liquido ruminal por el método de cromatografía de gases.....	25
3.8. Preparación de las muestras para el análisis de liquido ruminal por el método de cromatografía de gases.....	26
3.9. Análisis estadístico.....	27
4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	28
5. CONCLUSIONES.....	34
6. REVISION DE LITERATURA.....	35

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro		Pág.
1	Clasificación taxonómica de la levadura <i>Saccharomyces cerevisiae</i> .	7
2	Formulas alimenticias utilizadas en los diferentes tratamientos durante la fase de prueba de alimentación.	22
3	Composición de la aportación nutrimental de los diferentes tratamientos	22
4	Tratamientos con los porcentajes de masilla y levadura.	23
5	Medias ajustadas y error estándar de la media de ácido acético, propionico y butírico (mg/lit).	29
6	Proporción de concentración de ácido acético:propionico:butirico	29

INDICE DE FIGURAS

Figura		Pág.
1	Conversión del piruvato en ácidos grasos volátiles en el rumen	12
2	Bomba de vacío utilizada para extraer líquido ruminal	24
3	Máquina centrífuga para la separación de líquidos de sólidos	24
4	Extracción de líquido ruminal en ovinos utilizados en la prueba de alimentación	25
5	Valores de ácidos grasos volátiles (acético, propiónico y butírico) en los diferentes tratamientos (mM/L)	31

RESUMEN

Este trabajo se realizó en la Universidad Autónoma Agraria “Antonio Narro” en Buenavista, Saltillo, Coahuila, México, con una duración de 50 días. El objetivo de este trabajo fue evaluar la concentración de Ácidos Grasos Volátiles (AGV's, acético, propiónico y butírico) en líquido ruminal de borregos Texel alimentados con subproductos de cervecería (levadura *Saccharomyces cerevisiae* y masilla), en distintos niveles de inclusión. Se utilizaron 20 machos de la raza Texel con tres meses de edad, con un peso promedio de 20kg. Se utilizaron 4 tratamientos quedando: T1: (testigo) 0 % masilla 0 % levadura. T2: 20 % masilla 10 % levadura. T3: 15 % masilla 15 % levadura. T4: masilla 10% levadura 20 %. Los animales fueron alimentados dos veces al día 8:00 am y 5:00 pm y el alimento ofrecido fue calculado de acuerdo al consumo del 3 % del peso vivo del animal. La preparación de los alimentos se realizó dos veces por semana, para evitar cambios en la calidad de la dieta, debido que al almacenar los alimentos preparados, se presentaban hongos después de cuatro días de almacenados. La extracción de líquido ruminal se realizó por medio de una bomba naso gástrica, la cual se introdujo por la boca del animal hasta llegar al rumen. Se obtuvieron tres muestras por tratamiento. Después de la recolección se filtraron las muestras para conservar el líquido sin partículas sólidas y se almacenaron a -15°C: La lectura de concentración se realizó en un cromatografo Perkin Elmer. Para el análisis estadístico se utilizó un diseño completamente al azar con igual número de repeticiones por tratamiento de acuerdo al PROC GLM de SAS. No se encontró diferencia significativa ($P>0.05$) en la concentración de los ácidos acético, propionico y butírico entre los diferentes tratamientos.

Palabras clave: Ácidos Grasos Volátiles, Ácido acético, Ácido propionico, Ácido butírico, Concentración, Proporción molar, Ovinos, *Saccharomyces cerevisiae*, Masilla de cerveza, pH, Alimentación.

1. INTRODUCCIÓN

Los ovinos se han domesticado y explotado desde hace mas de 10 mil años para aprovechar su lana y secundariamente su carne. Llegaron a América alrededor del año 1500 d.C. y la existencia de terrenos con pastizales de clima templado permitió su rápida multiplicación en nuestro país y en todo el continente americano (Lesur, 2005).

Lesur (2005), dice que en los últimos 50 años la demanda de lana ha bajado debido a la elaboración y constante mejoramiento de las fibras sintéticas, por esta razón ha habido una clara tendencia al aumento de las poblaciones de animales de pelo, destinadas a la engorda. Esta tendencia de la ovinocultura también se observa en nuestro país, en donde cada vez es mayor el número de ovinos para carne, sin embargo, la mayor parte del ganado ovino es ganado criollo de productividad baja, con canales de poco peso.

En la actualidad la industria ovina en México está enfocada a la producción de carne, piel, y en forma muy aislada en la producción de leche, siendo la producción de carne la que tiene mayor aceptación en el mercado nacional, principalmente en el centro del país.

A partir de aproximadamente los dos meses de edad, superados ya los efectos del destete, los corderos adquieren la condición de rumiante propiamente dicho. El aparato digestivo (el rumen principalmente) está ya suficientemente desarrollado para aprovechar correctamente la dieta, basada en alimentos sólidos, constituida generalmente por alimento concentrado y por forraje (Buxadé, 1998).

Al igual que en otro tipo de ganado, en los ovinos el mayor gasto durante el año es la alimentación en la explotación intensiva. Por tal razón es importante la cuidadosa planeación en el uso de materias primas alimenticias, si se desea alcanzar mayor productividad en la explotación. La alimentación en los ovinos no recibe mucha importancia por parte de los productores debido a que consumen

gran cantidad de alimentos toscos. En muchas ocasiones la alimentación se basa en subproductos agrícolas. Por lo que es importante la búsqueda de alternativas para el mejor aprovechamiento de dichos subproductos.

Los ácidos grasos volátiles son compuestos de cadena carbonatada corta, que se producen durante la fermentación de los alimentos en el rumen y que son degradados a glucosa, ácidos aminados o ácidos grasos por la flora microbiana ruminal (Reid, 1970).

Generalmente se consideran como ácidos grasos volátiles el ácido fórmico, el acético, el propiónico, el butírico, el isobutírico, el 2-metil butírico, el valérico, el isovalérico, el caproico y el caprílico. Los ácidos acéticos, propiónico y butírico son los que se producen en mayor cantidad durante la fermentación de los alimentos en el rumen; los que aparecen en menor cantidad son el caproico y el caprílico (Reid, 1970). Estos compuestos son producidos por acción de enzimas intra y extracelulares de bacterias y protozoarios que habitan el rumen.

Objetivo

Determinar la concentración de Ácidos Grasos Volátiles en Líquido Ruminal de borregos Texel alimentados con diferentes niveles de inclusión de subproductos de cervecería (Levadura y Masilla).

Hipótesis

La inclusión de masilla y levadura de cerveza incrementará la concentración de ácido acético, ácido propionico y ácido butírico en el líquido ruminal de los ovinos.

2. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1 Importancia de la alimentación en la producción animal

El alimento representa el mayor costo de producción en la mayoría de las explotaciones pecuarias, razón por la cual resulta indispensable tratar de minimizar sus costos. En los últimos años se ha logrado reducir el costo de alimento gracias al desarrollo de los denominados “programas de formulación de mínimo costo” (Duran, 2006).

Scott (1997) y Martínez (1975), mencionan que en la producción de carne, la nutrición y la alimentación son factores importantes dentro de una engorda, la alimentación ocupa del 50 a 60 % o más de los costos totales de la misma, es por este motivo, que se debe tener un cuidado especial en seleccionar los ingredientes que tomen parte dentro de la engorda.

Ramagosa (1975), indica que los seres vivos precisan de un alimento que aporte suficientes nutrientes para mantenimiento y acumular reservas para poder desarrollarse; menciona también que dentro de la serie de factores ambientales a que está sujeto todo animal, también es fundamental, que aparte del crecimiento normal del animal, se vigile el peso y la talla.

Dentro de las explotaciones de ovinos en México se encuentra gran diversidad de sistemas de producción. Estos van desde los sistemas de producción basándose en el pastoreo con o sin suplementación donde no se lleva ningún control, hasta las explotaciones más tecnificadas en las cuales los ovinos son engordados bajo sistemas de semiestabulación o estabulación. Esto da como resultado una gran variación, tanto en la producción y la calidad de la carne (Morales, 2002^a).

El éxito de la explotación ovina radica principalmente en el buen manejo alimenticio (SEP, 1991). Por esta razón, es importante la cuidadosa planeación y uso de ingredientes si se desean alcanzar las mayores ganancias en el negocio (Juergenson, 1967).

La alimentación en los sistemas de producción ovina, definitivamente es merecedora de especial atención; esta deberá planearse desde diferentes puntos de vista y dependerá de factores; tales como el tipo y los objetivos de la producción, las razas utilizadas, los costos y la disponibilidad de los ingredientes para la elaboración de las raciones balanceadas; es necesario tener en mente, que a medida que se intensifique el proceso de producción, es más importante prestar atención a la alimentación, sobre todo cuando se trata de sistemas de alimentación estabulada (Urrutia *et al*, 2000).

2.2 Alimentación animal con cebada

La cebada (*Hordeum sativum*), ha sido siempre un grano muy empleado en la alimentación de los animales, especialmente los cerdos. En la mayoría de las variedades de cebada, el grano está rodeado por una cascarilla que representa, aproximadamente 10-14 por ciento del peso (McDonald *et al*, 1993).

El contenido de proteína bruta del grano de cebada, oscila entre 60 y 160g/kg MS, con valores medios cercanos a 110g/kg MS. Como ocurre en todos los granos de cereales, la proteína es de baja calidad, siendo especialmente deficiente en el aminoácido lisina (McDonald *et al*, 1993).

2.3 Subproductos de la Cebada

2.3.1 Subproductos de la Industria Cervecera

Para la fabricación de cerveza, la cebada se pone en remojo y se deja germinar. Durante este proceso, que se prolonga durante unos seis días, se desarrolla un sistema enzimático completo, que hidroliza los almidones hasta dextrinas y maltosa. Aunque las reacciones enzimáticas se inician durante esta germinación o <<malteado>>, la conservación masiva de los almidones en maltosa y otros azúcares tiene lugar durante el proceso siguiente llamado <<infusión>>. Después de la germinación, pero antes de la infusión, el grano o

malta se deseca, teniendo cuidado para no inactivar las enzimas. Se eliminan los vástagos, que se comercializan como gérmenes de malta (McDonald *et al.*, 1993).

La finalidad de la infusión consiste en proporcionar las condiciones adecuadas para la actuación de las enzimas sobre las proteínas y almidones, los cuales, se convierten en dextrinas, maltosa y pequeñas cantidades de otros azúcares. Finalizado el proceso, se separa el líquido azucarado <<mosto>>, quedando como residuo la <<pulpa de cerveza>>. La pulpa de cerveza puede venderse para el consumo animal, en forma húmeda o deshidratada (McDonald *et al.*, 1993).

Seguidamente, el mosto se hierve con lúpulo, que proporciona los característicos aroma y sabor; se retira el lúpulo por filtración, se deseca y se vende como lúpulo agotado. Se fermenta el mosto en un recipiente abierto mediante levaduras, durante varios días, en cuyo tiempo, la mayor parte de los azúcares se convierten en alcohol y dióxido de carbono. Se retiran las levaduras por filtración, se desecan, y se venden como levadura de cerveza (McDonald *et al.*, 1993).

Los subproductos obtenidos durante el proceso de fabricación de la cerveza son: gérmenes de malta, pulpa de cerveza, lúpulo agotado y levadura de cerveza. (McDonald *et al.*, 1993).

La levadura de cerveza, adicional al buen perfil de aminoácidos esenciales y el alto contenido de vitaminas hidrosolubles, ayuda a prevenir enfermedades después del parto: retención placentaria, postración, fiebre de leche, inflamación del útero y de la ubre, teniendo un efecto benéfico sobre la fertilidad (Burgstaller, 2007).

2.4 Levadura de Cerveza

La levadura desecada es un concentrado proteico, que contiene, aproximadamente, 420g de proteína bruta/kg. La proteína es muy digestible, pudiendo emplearse para toda clase de animales. El valor nutritivo de la proteína es bastante alto, lo que la hace especialmente adecuada para la alimentación de cerdos y aves. Es buena fuente de la mayoría de las vitaminas del grupo B,

relativamente rica en fósforo, pero de bajo contenido en calcio (McDonald *et al*, 1993).

Uno de los efectos principales de (*saccharomyces cerevisiae*), es actuar como un probiótico, que estimula la digestibilidad ruminal de la fracción de fibra detergente neutro en los forrajes (Ramírez *et al.*, 2003).

2.4.1 Características de las Levaduras (*Saccharomyces cerevisiae*)

El microorganismo *Saccharomyces cerevisiae* es mejor llamado levadura de cerveza. Las levaduras y otros microorganismos viven libres e independientes en la naturaleza, se encuentran en las frutas, los granos y otras materias nutritivas que contienen azúcares y en el suelo (especialmente en los viñedos y en los huertos), en el aire, en la piel y en el intestino de los animales (Palacio, 1956).

Se diseminan a través de portadores y por el viento, por lo general son organismos unicelulares y se presentan en formas muy variadas desde los esféricos, ovoides y elipsoidales (Palacio, 1956).

Las levaduras son los microorganismos de mas abundancia y antigüedad que el hombre ha usado con fines utilitarios, se usan en la industria de alcohol, vino, cerveza, en todo tipo de licores y en múltiples procesos que exigen fermentación o inversión de azúcares (Palacio, 1956).

Las levaduras son los microorganismos más utilizados en la producción de etanol por la vía fermentativa, debido a que producen un mejor proceso de separación después de la fermentación, además producen un contenido de toxinas muy inferior a otros microorganismos (Palacio, 1956).

Algunas especies capaces de producir fermentación alcohólica son las levaduras *Torulopsis*, *Cándida*, ciertas especies *Mucor* y algunas bacterias, sin embargo, la más importante es la *Saccharomyces* (Lewin, 2001).

Saccharomyces es una levadura unicelular, se divide por gemación y puede tener una reproducción asexual cuando se encuentra en su forma haploide, y de manera sexual cuando a partir de un cigoto se forma un asca que contiene cuatro ascosporas haploides. En el cuadro No. 1, se tiene la clasificación taxonómica de la levadura *Saccharomyces cerevisiae*.

Cuadro No. 1 Clasificación taxonómica de la levadura *Saccharomyces cerevisiae*

Clasificación	Taxonómica
Reino	Fungí
Filo	Ascomycota
Clase	Hemiascomycetes
Orden	Saccharomycetales
Familia	Saccharomycetaceae
Genero	Saccharomyces
Especie	cerevisiae

(Lewin, 2001).

Las utilidades industriales más importantes de esta levadura son la producción de cerveza, pan y vino, gracias a su capacidad de generar dióxido de carbono y etanol durante el proceso de fermentación. Básicamente este proceso se lleva a cabo cuando esta levadura se encuentra en un medio muy rico en azúcares (como la D-glucosa). En condiciones de escasez de nutrientes, la levadura utiliza otras rutas metabólicas que le permiten obtener un mayor rendimiento energético, y por tanto no realiza la fermentación (Lewin, 2001).

Debido a su proceso de obtención la levadura de cerveza tiene un sabor muy amargo, que resulta desagradable para muchos consumidores, por lo que es sometida a un procedimiento de "lavado" que busca eliminar este sabor. Así, comercialmente se conocen dos tipos de levadura: amarga y desamargada. Básicamente la cantidad de nutrientes en estos dos tipos de alimentos son los mismos y solamente estudios muy detallados pueden mostrar que la levadura de cerveza amarga contiene una cantidad ligeramente mayor de nutrimentos (Rodríguez, 2008).

Arambel y Kent (1990), mencionan que al agregar al alimento cultivo de levadura, esta aumenta la palatabilidad de la ración, mientras que Phillips y VonTungeln (1985) reportaron que la adición de cultivos de levadura en la dieta de los becerros incrementaba el consumo de materia seca y la ganancia diaria de peso.

Erasmus *et al.*, (1992) señalan que la suplementación de cultivo de levadura, aumenta el flujo de proteína bacteriana y que modifica favorablemente la concentración de aminoácidos de la proteína microbial que fluye hacia el intestino; Ramírez *et al.*, (2003) suplementaron dos cepas de *Saccharomyces cerevisiae* en becerras en crecimiento y no encontraron diferencia significativa entre tratamientos en las variables de consumo, ganancia de peso y digestibilidad.

Mientras algunos investigadores han documentado mayor digestibilidad y consumo (Adams *et al.*, 1981), existen varios reportes donde no ha habido respuesta en consumo, ganancia y conversión alimenticia (Williams *et al.*, 1994; Mir y Mir, 1994).

De acuerdo a algunas investigaciones se han encontrado efectos positivos en la adición de cultivos de levadura, como la estabilización del pH ruminal atribuido a la ausencia de la acumulación de lactato en el rumen evitando del mismo modo la presencia de acidosis ruminal. La importancia del pH ruminal, es que este juega un papel muy importante en la regulación del ecosistema microbiano, especialmente para microorganismos muy sensibles a un pH bajo como lo son las bacterias celulolíticas según Russell (1996).

Mir y Mir (1994) al evaluar el efecto que podría tener la adición de levadura (*Saccharomyces cerevisiae*) en el crecimiento y calidad de la canal de novillos alimentados con dietas altas en forraje o dietas altas en granos así como su efecto en la digestibilidad de los alimentos y la degradabilidad *in situ*, encontraron que en dietas altas en grano adicionadas con cultivos de levadura incrementaban la digestibilidad de materia seca y proteína cruda.

Mutsvangwa *et al.* (1992) reportaron altos valores de acetato en animales que recibieron levadura en sus dietas. Mientras que Mir y Mir (1994) encontraron una disminución en la producción de ácido propiónico cuando los novillos fueron alimentados con dietas suplementadas a base de silo de grano de maíz y dietas altas en grano, cada uno adicionada con levadura de cerveza.

2.5 Masilla

La masilla es un concentrado alimenticio rico en proteína, con una alta digestibilidad de sus proteínas y minerales. Por lo regular según su proceso de industrialización, puede estar constituida de la cascarilla de avena, residuos de maíz y otros cereales utilizados en la elaboración de cerveza (Smith, 2003).

El grano húmedo de cerveza puede ser almacenado durante 10 días en primavera, 5 días en verano y 30 días en invierno (Kim-HyeonShup, 1996). Si se almacena durante períodos más largos de tiempo, el material deberá ensilarse.

El hecho de que el grano húmedo de cerveza sea un excelente medio para el crecimiento microbiano, ha demostrado su tendencia a apoyar el crecimiento de levaduras y mohos, por lo que se recomienda ofrecer el ingrediente tan pronto como sea posible después de su recepción ya que es mejor no almacenar el ingrediente por un tiempo mayor de una semana a 10 días lo que es especialmente cierto en áreas calientes o templadas (West, 1994).

La masilla de cerveza en dietas para ganado lechero estimula el consumo de materia seca obteniendo con el suministro de estas raciones, mayor producción de leche (Johnson *et al.*, 1987).

Además en investigaciones recientes se ha encontrado que en animales rumiantes al ser alimentados con granos húmedos de cervecería (masilla), estos pueden reemplazar satisfactoriamente al gluten de maíz en engordas, según lo encontrado por (López – Guissa, 1991), no obstante en el sector lechero West (1994) encontró que en dietas para vacas se podría utilizar la masilla hasta en un 30 % de la materia seca, sin afectar los niveles de producción de leche.

En otras investigaciones, se ha encontrado que la masilla es una excelente fuente de fósforo y selenio aprovechable por el animal, pero con muy bajos niveles de potasio y calcio, por lo que ha resultado más eficiente su utilización si este se combina con forrajes ricos en estos minerales (Smith, 2003).

El sabor de la masilla disminuye con el aumento del tiempo que permanezca almacenada. Debido a su alto contenido de fibra (24 % FDA), estos subproductos no son normalmente utilizados en los sistemas intensivos de

alimentación. El contenido de proteína cruda (27-30 %) es relativamente alto y son ruminalmente menos degradables que otros derivados de fuentes vegetales, por lo que a menudo se utiliza en la alimentación de ganado lechero y ganado de carne que requieren proteínas adicionales (West, 1994).

Koenig *et. al.*, (2003) al evaluar el efecto del grano procesado y ensilado de la cebada en la síntesis de la proteína microbiana y digestibilidad de los nutrientes en ganado de carne encontraron que esta incrementaba eficientemente la síntesis de la proteína microbiana cuando se agregaba a la dieta un 20 % de silo de este subproducto, así mismo al agregar un 5 % de la dieta con silo se veía un pequeño incremento en el escape del nitrógeno no microbiano hacia el intestino.

2.6 Ácidos Grasos Volátiles (AGV)

Los ácidos grasos volátiles (AGV), en los que se incluyen los ácidos acético, butírico y propiónico, son producidos en grandes cantidades en el rumen por digestión fermentativa de la celulosa y otros compuestos orgánicos. Gran parte del consumo de energía en los rumiantes se cubre a partir de los AGV (Blood, 1994).

Las glándulas existentes en el intestino grueso son, fundamentalmente, mucosas y no producen enzimas; por consiguiente, la digestión en el intestino grueso se realiza por las enzimas del intestino delgado que se adhieren a los alimentos por el tracto digestivo, o como resultado de la actividad microbiana (Blood, 1994).

En el intestino grueso, especialmente en el ciego de los bovinos y ovinos, tiene lugar una intensa actividad microbiana. Los microorganismos presentes son lactobacilos, estreptococos, coliformes, bacteroides, clostridios y levaduras. Dichos microorganismos, metabolizan los residuos de origen alimentario y los de origen endógeno, dando lugar a la formación de una serie de productos como el indol, scatol, fenol, sulfuro de hidrogeno, aminas, amoniaco, y los ácidos grasos volátiles (Blood, 1994).

En los rumiantes y otras especies con poblaciones microbianas grandes en el conducto gastrointestinal, la fermentación anaerobia de los carbohidratos

origina grandes cantidades de ácidos grasos volátiles (AGV). Incluso en cerdos, cuya capacidad para utilizar celulosa es menor que en los rumiantes, algo de energía que se requiere para el mantenimiento la proporcionan los AGV producidos por la actividad microbiana sobre la fibra en el intestino delgado (Church *et al.*, 2002).

Las proporciones fibrosas de las plantas (tallos, hojas, cubiertas externas de las semillas) son ricas en celulosa; por tanto, su energía es liberada por medio de fermentación microbiana anaerobia en el rumen o en la porción ciego-colon para producir ácidos grasos volátiles (AGV) (Church *et al.*, 2002).

Las estimaciones existentes implican que la utilización microbiana de AGV está limitada a un pequeño porcentaje de la pérdida irreversible total (Emmanuel *et al.*, 1974). El 70 a 80% del acetato producido en el rumen de rumiantes está recuperado en la vena porta (Bergman y Wolff, 1971; Seal y Parker, 1994; Huntington *et al.*, 1983). El metabolismo epitelial ruminal del propionato y el acetato también son inhibidos por el butirato (Ash y Baird, 1973; Harmon *et al.*, 1991).

El piruvato es el intermediario clave que enlaza las rutas metabólicas, al cual lo unen con los principales productos finales de la digestión de los carbohidratos en el rumen, que son el ácido acético, propiónico y butírico, dióxido de carbono y metano, como se muestra en la figura 1.

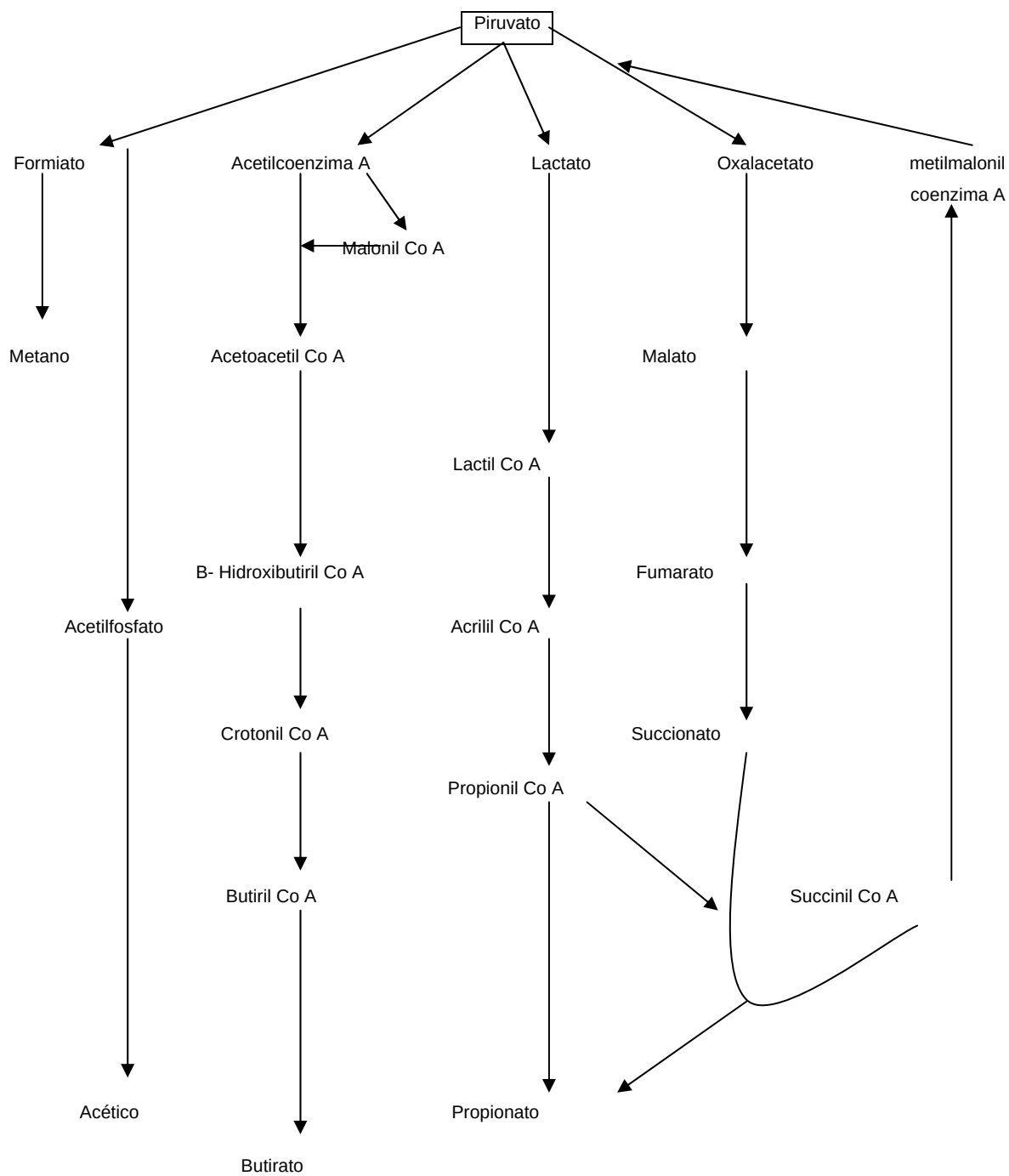


Figura No 1. Conversión del Piruvato en Ácidos Grasos Volátiles en el Rumen (McDonald *et al.*, 1993)

2.6.1 Producción de Ácido Acético

Las reacciones que predominan en la producción de este ácido y lo mismo del butírico, son reacciones fosfoclasticas, en las que el ácido pirúvico es convertido en fosfato de acetilo y ácido fórmico o hidrógeno y CO₂. Los hidrógenos que se desprenden en el proceso oxidativo son utilizados de distintas maneras según las bacterias que realicen la fermentación, los Clostridios transfieren los electrones liberados a protones que se separan como hidrógeno molecular, otras los transfieren al CO₂ produciendo ácido fórmico y otras más los utilizan para hidrogenar ácidos grasos (Allen, 1964).

Además hay bacterias, como las propionibacterias que al oxidar el ácido pirúvico hasta acético no liberan hidrógeno, sino que éste es utilizado para formar ácido propiónico simultáneamente (Allen, 1964).

A su vez el ácido fórmico sufre oxidación rápida en el rumen, en la que interviene una deshidrogenasa fórmica asociada a ferredoxina. Esta oxidación produce hidrogeno y CO₂ (Allen, 1964).

2.6.2 Producción de Ácido Propiónico

El ácido propiónico es producido en el rumen a partir del ácido pirúvico o del ácido láctico, siguiendo dos vías diferentes, aún cuando las dos son funcionales, una de ellas es la predominante y se lleva a cabo con la formación de oxaloacetato y succinato. La segunda vía requiere de la formación de acrilato y se presenta en el rumen de animales en los que la ración alimenticia es deficiente en azufre, quizá debido a un cambio en la población bacteriana, o bien cuando es a base de granos (Whanger, 1967; Wallnofer, 1967).

2.6.3 Producción de Ácido Butírico

En el rumen se puede sintetizar este ácido a partir del acético o de sustancias capaces de formar Acetil-CoA, como el ácido pirúvico (Barker 1961).

2.6.4 Biosíntesis de los Ácidos Grasos Volátiles

Los ácidos grasos volátiles, acético, propionico, butírico, a los que también se hará referencia como acetato, propionato y butirato, pues en el rumen se encuentran en forma aniónica, son productos de desecho del metabolismo de la microbiota digestiva y constituyen 80% de la energía que desaparece del rumen, tanto por absorción (80 a 90%), como por sobrepaso al omaso (de 10 a 20%); el 20% restante se elimina en forma de calor y como metano. Estos ácidos aportan entre 50 y 70% de la energía digestible del rumiante. Son diversos los factores que regulan su síntesis, concentración y porcentaje relativo (que en promedio es de 70:20:10) (Shimada, 2003).

2.6.5 Interconversión de los Ácidos Grasos Volátiles

Probablemente el factor que más influye en la composición de los ácidos grasos volátiles ruminales sea la composición de la dieta. Por lo general se acepta que en dietas con gran cantidad de forraje, el patrón de fermentación ruminal está entre 65:25:10 y 70:20:10 (acetato:propionato:butirato, en porcentaje molar), mientras que cuando el contenido de concentrados es mayor, las proporciones varían entre 45:40:15 y 50:40:10 (Shimada, 2003).

2.6.6 Absorción de los Ácidos Grasos Volátiles

Los ácidos grasos que se liberan en el rumen son aprovechados en parte por las bacterias, que los utilizan para sintetizar algunos de sus componentes estructurales. La síntesis de proteína se realiza principalmente a partir del ácido acético, algunas bacterias sintetizan los ácidos grasos de cadena larga a partir del isobutírico, n-valérico y n-caproico, principalmente (Wegner, 1963).

El resto es absorbido en su mayoría a través del rumen realizándose por medio de difusión simple, es decir, siempre que el gradiente de concentración sea favorable para ello; aquellos que no son absorbidos a este nivel pasan al omaso y abomaso en donde también hay absorción (Tweedie, 1966). Weston y Hogan (1968) comprobaron que cerca de 76% de los ácidos presentes en el rumen se

absorbían a este nivel, 19% en omaso y abomaso y tan sólo un 4-5% llegaba a pasar al intestino.

El orden en que se absorben los ácidos en corderos y terneros corresponde a la secuencia: butírico > propiónico > acético. En el abomaso la absorción se realiza prácticamente a la misma velocidad que en el retículo rumen. En cambio el ácido láctico, que normalmente no se produce en gran cantidad en rumen, parece ser absorbido más bien lentamente (Heuter, 1956).

Se ha observado que la absorción a través de la pared del rumen es más efectiva en aquellas superficies que poseen un gran número de papilas y ha habido investigadores que han establecido que existe una correlación entre la longitud relativa de las papilas en el saco ventral del rumen y la ganancia de peso por el animal (Sellers, 1955).

La absorción de los ácidos grasos es afectada por el pH en el medio. Si se alcaliniza el contenido ruminal, la absorción se reduce, en cambio cuando el medio es acidificado la absorción se aumenta. Este aumento puede deberse a que se facilita el paso de moléculas no ionizadas de las capas lipoides de la membrana celular o al hecho de que cuando se eleva la concentración de CO₂ y ácido butírico se induce un aumento en el aporte sanguíneo hacia el rumen, facilitando la salida rápida de los productos de la digestión (Sellers, 1955).

Otro de los factores que tiene una gran influencia sobre la velocidad de absorción de los ácidos, es el metabolismo de los mismos a nivel de la célula epitelial del rumen. El hecho de que estos ácidos sean metabolizados en el epitelio que recubre el rumen, aun cuando no se conoce bien el grado de modificación de cada uno de los ácidos, es posible afirmar que el acético es absorbido y pasa al torrente sanguíneo prácticamente sin ningún cambio; el propiónico se absorbe y en el epitelio una parte se convierte en láctico; en cambio el butírico es transformado casi totalmente a cuerpos cetónicos (Pennington 1967, Hird 1961 y Leng 1969).

En los rumiantes, la absorción directa de glucosa es prácticamente nula. En experimentos en los que se utilizaron borregos alimentados con raciones ricas en almidón soluble, no se logró una absorción mayor de 25 g/día. Posteriormente ha

aparecido información en el sentido de una mayor absorción cuando se usan raciones a base de maíz molido (Tucker, 1968).

La fermentación de los alimentos en el rumen (Mackie y White, 1990) producen AGV de cadena corta (principalmente acético, propiónico y butírico), bióxido de carbono, metano, amoníaco y ocasionalmente otros ácidos como el láctico (Hungate, 1966; Mackie y White, 1990). La producción de los AGV y del pH en el rumen, también es afectada por el tipo y cantidad de alimento consumido por los animales (Kincaid *et al.*, 1982; Shriver *et al.*, 1986; Slyter, 1986). El valor del pH es menor, conforme se incrementa la concentración de los AGV.

La proporción de los AGV está relacionado con el nivel de alimento consumido (Sutton, 1985) y la composición de la dieta (Murphy *et al.*, 1982). La frecuencia de la alimentación, puede afectar la relación acético:propiónico; siendo mayor, cuando se aumenta la frecuencia de la alimentación (French y Kennelly, 1990); también la relación acético:propiónico es mayor, en raciones básicas de alfalfa que con ensilaje de maíz (Kung *et al.*, 1992).

Los ácidos grasos volátiles se forman en el rumen una vez que el bolo alimenticio llega y se descompone en él. Sin embargo, la proporción de formación de estos ácidos grasos varía con la dieta que se les suministre a los animales (Kung *et al.*, 1992).

2.6.7 Factores que Afectan la Producción de Ácidos Grasos Volátiles

La mayor concentración de ácidos grasos volátiles en el rumen se observa después de que han transcurrido de 3 a 6 horas de la ingestión del alimento, si este es ofrecido una sola vez al día. (Balch, 1957).

La cantidad de ácidos grasos volátiles presentes en el líquido ruminal en un momento dado depende, de la absorción de los ácidos a través de las papilas, o de su paso a los otros compartimentos. La proporción de cada uno de los ácidos grasos volátiles en la mezcla varía con la calidad, cantidad y aún con la textura de los componentes de la dieta (Balch 1957).

La proporción molar de ácido acético es elevada, cuando se suministra dietas a base de forrajes o pastos sin picar o en trozos grandes, la variación

dependerá del tipo de forraje o pasto, estado de madurez del mismo, la fertilización de la tierra en la donde se desarrollo (Balch, 1957). Además con estas raciones hay una pérdida considerable de la energía consumida, energía que se pierde bajo la forma de metano (Armstrong, 1960).

En aquellos casos en que la dieta es modificada por la introducción de una gran cantidad de concentrado, sin un período previo de adaptación, se puede provocar una acumulación de ácido láctico en el rumen. Esto es el resultado de la incapacidad de las bacterias existentes para metabolizarlo a la velocidad en que es producido y por la falta de una concentración adecuada de bacterias capaces de hacerla. La producción excesiva de ácido láctico puede llevar a provocar una acidosis en el animal, y su muerte (Annison, 1965).

Por lo general, la adición de concentrados a las raciones a base de forraje causa una disminución en la concentración de ácido acético, que es compensada con un aumento en la concentración de propiónico o de butírico. Este efecto no es constante, ya que se presentan variaciones entre animales y de un concentrado a otro. El aumento en ácido propiónico se observa cuando la cantidad de concentrado adicionada es elevada y su composición es a base de granos con gran cantidad de almidón, especialmente si han sido tratados previamente con calor. La adición de concentrados disminuye la producción de metano (Bath, 1965).

Los concentrados a base de granos en cuya preparación se incluye el tratamiento con calor y presión son fermentados con mayor rapidez y favorecen la producción de ácido propiónico. Este aumento en la digestibilidad puede deberse a que durante el tratamiento previo llega a haber un cierto grado de fragmentación de los gránulos de almidón e hidrólisis parcial de las moléculas del mismo (Treil, 1966).

Es posible aumentar la producción de ácido butírico hasta un 25-35% de los ácidos grasos volátiles totales (en base a molaridad) utilizando raciones con un alto contenido en miel y urea, logrando también en el proceso un aumento en la concentración de ácido valérico y caproico. Este incremento se realiza, por lo general, a expensas del ácido acético (Marty, 1970).

La actividad microbiana en el rumen, que es la responsable de la digestión a este nivel y finalmente de la producción de los distintos ácidos grasos, depende de la adaptación de los microorganismos a la ración alimenticia del animal (Church, 1960). Esta adaptación ayuda a determinar la digestibilidad de las diferentes raciones.

Siendo la celulosa uno de los sustratos más importantes en las raciones para los rumiantes, ha sido una preocupación constante del especialista en nutrición el aumentar su digestibilidad adicionando a las raciones aquellos elementos que ayuden a una mejor actividad de las bacterias celulolíticas. Uno de los factores que tiene mayor influencia es la cantidad de nitrógeno presente, ya que la digestibilidad de cualquier forraje se reduce con la disminución de nitrógeno en la ración. Si el forraje es de mala calidad es necesario agregar, ciertos minerales para aumentar la digestibilidad de la celulosa. También se ha observado que la adición de ácidos aminados o ácidos grasos ramificados resulta benéfica pues este tipo de cadenas carbonadas son esenciales para las bacterias celulolíticas (Hungate, 1966).

En general se acepta que existe una relación estrecha entre la cantidad de células bacterianas presentes en el rumen, los carbohidratos fermentados y la producción de ácidos grasos volátiles. Otro de los factores que se ha estudiado con amplitud es la textura de los alimentos, desde el troceado, picado y empastillado hasta el pulverizado. La fragmentación de los forrajes facilita la digestión porque hay mayor superficie para la acción enzimática bacteriana, sin embargo, el moler finamente el forraje disminuye su acción, ya que el tránsito a través del rumen se hace más rápido (Moore, 1964).

2.7 Cromatografía de fase gaseosa-fase líquida

El cromatógrafo de fase gaseosa- fase líquida se construye con el fin de analizar los ácidos grasos volátiles del rumen. Desde principios de la década de 1950, se ha mejorado notablemente esta técnica y los instrumentos con los que se efectúa. Estos instrumentos son capaces de analizar casi todos los compuestos que se pueden vaporizar los que se encuentran en estado gaseoso.

La muestra que se va a examinar se coloca en el instrumento y se hace pasar por medio de un gas a través de una columna cromatográfica caliente. Este procedimiento permite que la separación cuantitativa de compuestos químicos muy relacionados (como los ácidos acético y propionico) se efectué en forma bastante rápida. Asimismo, requiere únicamente muestras muy pequeñas. En nutrición, los cromatógrafos de fase gaseosa-fase líquida y los de alto rendimiento resultan útiles para los análisis de ácidos grasos, pero también son capaces de analizar muchos otros compuestos orgánicos (Church *et al.*, 2002).

3 MATERIALES Y METODOS

3.1 Localización del Área de Estudio

El presente estudio se llevo a cabo en las instalaciones de la unidad metabólica de la Universidad Autónoma Agraria “Antonio Narro”, ubicada en los terrenos de la misma en Buenavista, Saltillo, Coahuila, su localización geográfica se encuentra en las coordenadas 25°22’44’’ N y 100°00’00’’ W con una altitud de 1742msnm. Con una temperatura media anual de 17.7°C y una precipitación de 309.9 mm (régimen de lluvias de mayo a octubre). El clima se caracteriza por ser seco o árido y con frio muy extremo (García, 1983).

3.2 Animales Utilizados

En este estudio se utilizaron 20 borregos de la raza Texel, con un peso promedio de 20 Kg, con una edad de tres meses, a los mismos se les aplicó la vacunación de las 11 vías, desparasitante (closantil) y vitaminas (ADE). Los borregos fueron alojados en corrales individuales de 3X2 metros, los cuales están equipados con comederos y para proporcionar agua se utilizaron cubetas de 10lts. Los borregos fueron distribuidos al azar en 4 tratamientos y 5 repeticiones, donde los ingredientes a evaluar fueron la masilla y levadura (*saccharomyces cerevisiae*) subproductos de la industria cervecera. Dichos animales provenían del vivero “Las Palmas”, propiedad del Ing. Ricardo Alcázar.

3.3 Alimentación

La dieta que se ofreció a los animales se puede apreciar en el cuadro 2, en donde estaban incluidos los subproductos de cervecería (masilla y levadura) a distintos niveles.

La alimentación de los borregos se realizó en 2 fases que consistieron en la adaptación y la del periodo de engorda.

El periodo de adaptación fue de 10 días, con ofrecimiento de la ración dos veces al día 8:00 am y 5:00 pm el cual consistió en ofrecer forraje (rye grass) en 90 % y 10% de ración completa el cual fue aumentando en la misma proporción diariamente hasta alcanzar el 100% de la ración.

Para el inicio de la prueba fue suministrada la dieta con la proporción de 80:20 forraje (heno de pasto rye grass): ración completa de la dieta de prueba, y cada tercer día se disminuía el forraje y aumentaba en 10% la ración completa hasta llegar a suministrar la dieta completa de la prueba.

La fase de finalización fue de 40 días, donde se ofrecía ración completa donde los ingredientes utilizados, fueron sorgo, soya, semilla de algodón, alfalfa, premezcla de vitaminas y megamin III, bicarbonato de calcio, calcio, masilla y levadura en los tratamientos respectivos. El pesado de los animales se realizó cada 15 días para evitar el estrés.

En cuanto a la cantidad suministrada del alimento, fue calculada de acuerdo al 3% del peso vivo del animal, por día, luego se realizaron los ajustes correspondientes. La preparación de los alimentos se realizó dos veces por semana, para evitar cambios en la calidad de la dieta, esto debido que al almacenar los alimentos preparados, ya presentaban hongos después de más de cuatro días de almacenados, considerando que existían varios niveles de

levadura y masilla en el alimento ofrecido que hacían variar el nivel de humedad para cada tratamiento. Es por esto que debido a la humedad tan alta de los ingredientes en prueba es que se debe controlar la formación de hongos. El heno de rye grass y el heno de alfalfa fueron picados con una criba de 2” en el molino eléctrico de martillos con que cuenta la unidad metabólica.

Cuadro No 2. Fórmulas alimenticias utilizadas en los diferentes tratamientos durante la fase de prueba de alimentación.

TRATAMIENTO INGREDIENTE	TRATAMIENTO 1 %	TRATAMIENTO 2 %	TRATAMIENTO 3 %	TRATAMIENTO 4 %
SORGO ROLADO	48.03	29.50	30.12	30.82
SOYA	15.89	6.67	6.07	5.71
S. ALGODÓN	1.86	7.40	7.40	7.87
HENO DE ALFALFA	25.91	20.36	20.36	19.84
MASILLA	0.0	18.50	13.88	9.24
LEVADURA	0.0	9.26	13.88	18.51
MINERALES	.91	.93	.93	.93
CALCIO	2.77	2.79	2.79	2.79
BICARBONATO	4.63	4.64	4.64	4.64
TOTAL	100.00	100.00	100.00	100.00

El método utilizado para balancear la dieta fue el método de programación lineal, para obtener ganancias diarias de peso de 350grs.

Cuadro No 3. Composición de la aportación nutricional de los diferentes tratamientos

TRATAMIENTO NUTRIENTE	T1 %	T2 %	T3 %	T4 %
MS	86.67	66.65	66.28	65.91
NTD	76.60	75.73	75.68	75.77
PC	18.55	18.54	18.55	18.55
EM	2.98	2.98	2.98	2.98
Ca	0.50	0.51	0.51	0.50
P	0.39	0.44	0.44	0.45

MS: Materia Seca, **NTD:** Nutriente Total Digestible, **PC:** Proteína Cruda
EM: Energía Metabolizable, **Ca:** Calcio, **P:** fosforo

3.4 Tratamientos

Para el estudio realizado se utilizaron 4 tratamientos y 5 repeticiones. Para la evaluación de la concentración de AGV's se utilizaron 3 repeticiones por tratamiento.

Cuadro No 4. Tratamientos con los porcentajes de masilla y levadura.

Tratamiento Testigo	% de Masilla	% e Levadura
1	0	0
2	20	10
3	15	15
4	10	20

3.5 Materiales de Recolección de Muestras (Líquido Ruminal)

- Bomba de naso gástrica.
- Manguera con una longitud de 90 cm.
- Matraz Erlenmeyer de 500 ml.
- 12 recipientes con tapa.
- Congelador (refrigerador).
- Termo con hielo.
- 12 tubos de ensaye para centrifuga.
- Centrifuga.



Figura 2. Bomba naso gástrica utilizada para extraer liquido ruminal.



Figura 3. Maquina centrifuga para la separacion de liquidos de solidos.

3.6 Recolección de Muestras

Se realizó con una bomba naso gástrica, con una manguera conectada, la cual se introducía por la boca del animal hasta llegar al rumen, con una longitud de 90 cm. Se utilizó un Matraz Erlenmeyer de 500 ml., el mismo estuvo conectado a la bomba de vacío. Posteriormente se recolectó de 100 a 200 ml. del líquido ruminal de cada animal de todos los tratamientos. Luego se vació en un recipiente, esta operación se realizó lo más rápido posible evitando así sobrecalentamientos de las muestras obtenidas, las muestras obtenidas se almacenaron rápidamente en el termo con hielos. El siguiente paso después de la

recolección fue llevar las muestras al laboratorio y se filtraron para solo conservar el líquido ruminal sin partículas sólidas. El líquido ruminal después de haber sido filtrado se almacena en un congelador a -15°C .



Figura 4. Extracción de líquido ruminal en ovinos utilizados en la prueba.

3.7 Materiales utilizados para el Análisis de Líquido Ruminal por el Método de Cromatografía de Gases

- Pipeta.
- tubos de centrifuga.
- Ácido orto-fosfórico al 85%.
- Ácido fórmico al 25%.
- Agitador Vortex.
- Centrifuga.
- Cromatógrafo de gases (Perkin Elmer), con la columna estandarizada para determinar AGV's.

3.8 Preparación de las Muestras para el Análisis de Líquido Ruminal por el Método de Cromatografía de Gases

Las muestras fueron almacenadas en un congelador a -15°C. Para la cuantificación de los AGVs por Cromatografía de gases, se descongelaron las muestras y se tomó con pipeta una alícuota de líquido ruminal, de 5 ml. y se colocó en un tubo de centrifuga. Se Agregó 0.5 ml. de una solución 2:1 v/v de ácido orto-fosfórico al 85% y ácido fórmico al 25%. La mezcla ácida precipitó las proteínas que contaminan a la columna. Se Agitó bien mediante un agitador Vortex. Después de 30 minutos, el contenido fue centrifugado a 4,500 rpm por 45 minutos. El sobrenadante de cada una de las muestras fue puesto en viales de 1.5 ml. de esta forma quedó listo para la inyección directa al cromatógrafo Perkin Elmer.

Métodos y materiales utilizados según Tejada (1992) y Castellanos *et al.*, (1990).

3.9 Análisis Estadístico

Para el análisis estadístico, se utilizó un diseño completamente al azar con igual número de repeticiones por tratamiento de acuerdo al PROC GLM de SAS (SAS, 1999; Rodríguez, 1992).

El estudio realizado requirió que se asignaran al azar los tratamientos a unidades experimentales, los cuales requerían que dichos tratamientos fueran aplicados a unidades experimentales homogéneas, proporcionándonos un máximo número de grados de libertad para la estimación del error experimental.

Las variables analizadas son las siguientes:

1. Concentración de Ácido Acético.
2. Concentración de Ácido Propiónico.
3. Concentración de Ácido Butírico.

Se utilizó el siguiente modelo estadístico lineal:

$$Y_{ij} = \mu + T_i + E_{ij}$$

$$i = 1, 2, 3, \dots, t \text{ (tratamientos)}$$

$$j = 1, 2, 3, \dots, r \text{ (repeticiones)}$$

Donde:

Y_{ij} = Variable aleatoria observable del i – esimo tratamiento con la j – esima repetición.

μ = Media general.

T_i = Efecto de i – esimo tratamiento.

E_{ij} = Error experimental.

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Al ser analizados estadísticamente los valores de concentración de ácido acético, propiónico y butírico en líquido ruminal de borregos Texel alimentados con levadura y masilla de cerveza, no se encontró diferencia significativa ($P>0.05$) entre tratamientos. En los rumiantes y otras especies con poblaciones microbianas grandes en el conducto gastrointestinal, la fermentación anaerobia de los carbohidratos origina grandes cantidades de ácidos grasos volátiles (AGV) (Church *et al.*, 2002). Kohn (1994), menciona que la producción de AGV es marcadamente influenciada por diversos factores, como la ración, el manejo, el estado fisiológico del animal y el estatus de la población microbiana ruminal. Sin embargo Giesecke (1970) concluyó que las concentraciones de AGV en el rumen son reguladas por un balance entre producción y absorción. Balch (1957) menciona que la cantidad de ácidos grasos volátiles presentes en el líquido ruminal depende, de la absorción de los ácidos a través de las papilas, y de su paso a los otros compartimentos. En general se acepta que existe una relación estrecha entre la cantidad de células bacterianas presentes en el rumen, los carbohidratos fermentados y la producción de ácidos grasos volátiles (Hannah *et al.*, 1986; Mansfield *et al.*, 1995; Merry *et al.*, 2006). Santini *et al.*, (1983), reportan que el porcentaje molar de acetato y propionato, fueron afectados por el nivel de concentrado y el tamaño de partícula del forraje; también menciona que el nivel de consumo ha sido considerado como uno de los factores que más directamente afecta al flujo de líquidos y a la secreción de saliva en los animales.

En el cuadro 5, se tienen las concentraciones de AGV's siendo más altas para el tratamiento tres donde se adicionaron partes iguales de levadura y masilla de cerveza, la concentración molar de ácido acético es de 31.06 mM/L, para el ácido propiónico de 7.61 mM/L y para el ácido butírico de 3.97mM/L, se obtuvieron resultados muy parecidos a los obtenidos en investigaciones realizadas por Fimbres *et al.*, (2005), donde evaluó el efecto del nivel de fibra sobre la digestibilidad, rumia y pH ruminal de corderos alimentados con raciones energéticas; el patrón de AGV es como en otros alimentos fibrosos, alto en

acetato y bajo en propionato y butirato (Van Soest, 1982). El exceso de acetato no metabolizado posiblemente deprime el consumo de alimentos y disminuye la respuesta animal (Preston y Leng, 1989).

No se encontraron diferencias de producción en la proporción molar de los tres principales ácidos grasos volátiles en el líquido ruminal de ovinos alimentados con diferentes niveles de levadura y masilla de cerveza en la ración. El ácido acético predominó, sobre las proporciones bajas de los ácidos propiónico y butírico. Se sabe que cuando se incorporan concentrados en la ración, la eficiencia de conversión de glucosa a AGV's puede llegar hasta valores de 80-82% (Orskov, Flatt y Moe, 1968), lo cual tiende a mejorar la eficiencia de utilización de la energía metabolizable. Blood (1994), menciona que los ácidos acético, propiónico y butírico, aportando una gran proporción del suministro total de energía a los rumiantes.

Cuadro No 5. Medias ajustadas y error estándar de la media de ácido acético, propiónico y butírico (mM/L).

Tratamiento	Ácido acético	Ácido propiónico	Ácido butírico
T1	17.92 ^a	5.81 ^a	3.58 ^a
T2	27.89 ^a	7.02 ^a	2.60 ^a
T3	31.06 ^a	7.61 ^a	3.97 ^a
T4	25.91 ^a	6.38 ^a	2.11 ^a

^a Literales iguales en columnas indican no diferencia (P<0.05)

CUADRO No 6. Porcentaje molar de la proporción de concentración de ácido acético: propiónico: butírico

TRATAMIENTO	Ácido acético:	Ácido propiónico:	Ácido butírico
T1	65.64:	21.27:	13.11
T2	74.35:	18.72:	6.93
T3	72.84:	17.85:	9.31
T4	75.32:	18.55:	6.13

La proporción promedio de acético: propiónico: butírico en líquido ruminal de ovinos Texel alimentados con subproductos de cervecería (masilla y levadura) fue de 72.04: 19.10: 8.12. Church *et al.*, (2002) y Maynard *et al.*, (1992), menciona que bajo cualquier régimen alimenticio y en orden descendiente de abundancia, los ácidos predominantes serán: acético, propiónico y butírico. Shimada (2003), menciona que generalmente se acepta que en dietas con gran cantidad de forraje, el patrón de fermentación ruminal está entre 65:25:10 y 70:20:10 (acetato:propionato:butirato, en porcentaje molar), mientras que cuando el contenido de concentrados es mayor, las proporciones varían entre 45:40:15 y 50:40:10.

La proporción de los AGV está relacionado con el nivel de alimento consumido (Sutton, 1985) y la composición de la dieta (Murphy *et al.*, 1982). La frecuencia de la alimentación, puede afectar la relación acético:propiónico; siendo mayor, cuando se aumenta la frecuencia de la alimentación (French y Kennelly, 1990); también la relación acético:propiónico es mayor, en raciones básicas de alfalfa que con ensilaje de maíz (Kung *et al.*, 1992).

La mayor concentración de ácidos grasos volátiles en el rumen se observa después de que han transcurrido de 3 a 6 horas de la ingestión del alimento, si este es ofrecido una sola vez al día. (Balch, 1957).

En la figura 5 se observa una diferencia aritmética en cuanto a los niveles de ácido acético en relación al T1 (testigo). El ácido propiónico de T2, T3 y T4 en comparación al T1 (testigo) presenta concentraciones menos variadas. Por otra parte la concentración del ácido butírico presenta mayor variación en los cuatro tratamientos siendo los más altos T3 y T1. Van Soest (1994) menciona que las proporciones relativas de los AGV varían con la dieta, encontrando que el ácido acético predomina en la mayoría de las condiciones, pero siempre se encuentran cantidades sustanciales de ácidos propiónico y butírico. Por lo tanto si se considera la proporción de los ingredientes (granos y forrajes) y la inclusión de los subproductos de cervecería que fueron adicionados en la dieta los mejores tratamientos son el T2 (20 % masilla: 10 % de levadura) y el T3 (15% masilla: 15 % levadura).

Llamas (2008), menciona que niveles de 10 a 20 % de inclusión de masilla en la dieta, hay un aumento significativo ($P<0.05$) en la concentración molar de acetato, propionato y butirato. Y que cuando se adiciona 10 % de levadura y 20 % de masilla se observaron diferencias altamente significativas.

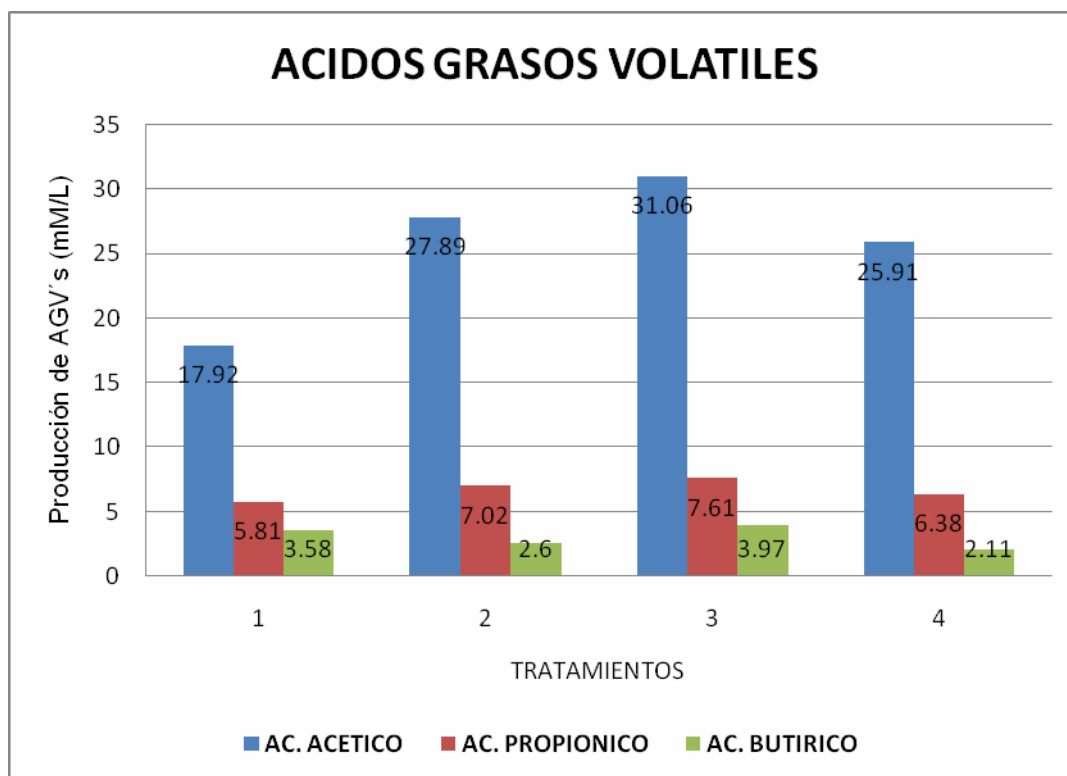


Figura 5. Valores de Ácidos Grasos Volátiles (acético, propiónico y butírico) en los diferentes tratamientos (Mm/L).

El pH de líquido ruminal promedio fue de 8.1 altamente alcalino. Resultados similares encontraron Yokohama y Johnson (1988) en corderos cuando se les suministró alfalfa, los valores variaron de 6.6 a 7.8 lo que esta mas relacionado con este estudio en el cual fue utilizada la alfalfa. Sin embargo cuando fueron alimentados con cereales, el pH varió de 5.7 a 7.2. De Gregorio *et al.* (1982) encontraron valores de pH de 7.2 en el ciego de corderos alimentados con forraje. Sin embargo, en un trabajo realizado en ovinos por Lewis y Dehority (1985), con diferentes niveles de fibra en la dieta, se encontraron valores de pH de 6.3 a 6.9.

Russell (1996) menciona que de acuerdo a algunas investigaciones se han encontrado efectos positivos en la adición de cultivos de levadura, como la estabilización del pH ruminal atribuido a la disminución en la producción de lactato en el rumen evitando del mismo modo la presencia de acidosis ruminal.

La importancia del pH ruminal, es que este juega un papel muy importante en la regulación del ecosistema microbiano, especialmente para microorganismos muy sensibles a un pH bajo como lo son las bacterias celulolíticas según Russell (1996).

La absorción de los ácidos grasos volátiles es afectada por el pH en el medio. Si se alcaliniza el contenido ruminal, la absorción se reduce, en cambio cuando el medio es acidificado la absorción se aumenta. (Sellers, 1955).

Cambios en los procesos de fermentación ruminal ocurren principalmente debido a los cambios en el pH del rumen (Davis *et al.*, 1964). El pH del contenido ruminal ejerce una influencia importante sobre la producción total de los ácidos grasos volátiles, ya que este baja al aumentar el pH (Van Soest, 1994).

Animales que reciben raciones altas en grano, generalmente tienen un pH ruminal bajo y este puede incrementar la absorción de AGV (Lana *et al.*, 1998). Davis *et al.* (1964) menciona que un pH bajo con raciones altas en grano se debe a la disminución en la producción de saliva que amortigua la acidez en el rumen. Agregan además, que aún cuando la concentración de acetato se reduce con la alta cantidad de concentrado, su nivel de producción no cambia considerablemente. Esto es posible ya que al mismo tiempo que se incrementa la producción de propionato, aumenta considerablemente la tasa de absorción de todos los AGV's.

La adición de bicarbonato, si es adicionado en suficiente cantidad, compensa la reducida producción de saliva y crea una condición dentro del rumen similar a la encontrada cuando se utiliza una alimentación normal. Por ejemplo, en experimentos realizados utilizando bicarbonato de sodio en la alimentación (raciones altas en grano – restricción de forraje) de vacas lecheras, Davis *et al.* (1964) encontraron cambios significativos en la proporción de AGV en el rumen. En los cambios más notados, fue un incremento de acetato y una disminución en

propionato, lo que resulto en un incremento de la relación acetato:propionato, aunque estos cambios no fueron significativos. En general, el pH del rumen se incremento con la adición de bicarbonato de sodio (Davis, 1979). En algunos estudios, el bicarbonato de sodio incremento la proporción molar del acido acético y disminuyo la proporción molar del acido propionico en el rumen parecido a los resultados obtenidos en esta investigación.

5. CONCLUSIONES

De acuerdo con los resultados se concluye que la adición de residuos de cervecería (levadura y masilla) en la dieta de ovinos en engorda, no afectó la concentración de los ácidos grasos volátiles, siendo en promedio la proporción de 70:20:10 (acético:propiónico:butírico) lo cual es adecuado e indicativo de un buen metabolismo ruminal.

Conociendo las características nutricionales y microbiológicas de la levadura y la masilla de cerveza, se considera que son ingredientes benéficos para aumentar la calidad de las dietas alimenticias de los rumiantes y reducir los costos por kilogramo de alimento.

Se recomienda llevar a cabo futuras investigaciones donde se evalúen niveles más altos de estos subproductos en las dietas ofrecidas, tomando como principio que el 15 % de masilla y 15 % de levadura en la dieta dieron los mejores resultados numéricos.

6. LITERATURA CITADA

- Adams**, D. C., M. L. Gaylean, H. E. Kiesling, J. D. Wallace and M. D. Finker. 1981. Infuence of viable Yeast Culture, Sodium Bicarbonate and Monensin on Liquid Diluti3n Rate, Rumen Fermentation and Feedlot Performance of Growing streers and Digestibility in Lambs. J. Anim. Sci. 53:780-789.
- Allen**, S. H. G., R. W. Kellermeyer, R. L. Sto Jernhold and F. G. Wood. 1964. Purification and properties of enzymes involved in the propionic acid fermentation. J. Bact. 87:171-178.
- Annison**, E. F. 1965. Physiology and digestion in the ruminat. Buterworth, London 1ra. Edici3n. Pp. 185.
- Arambel**, M. J., and Kent, B.A. 1990. Effect of yeast culture on nutrient digestibility and milk yield response in early to mid lactation dairy cows. J. Dairy Sci. 73:245-246.
- Armstrong**, D. G. 1960. Calorimetric determination of the net energy value of dried S-23 rye grass at four stages of growth. Proc 8th Intl. Grassland Congr. Pp. 485.
- Ash**, R., and G. D. Baird. 1973. Activation of volatile fatty acids in bovine liver and remen epithelium. Biochem. J. 136:311-319.
- Balch**, C. C., and S. J. Rowlan. 1957. Volatile fatty acids and lactic acid in the rumen of cows receiving a variety of diets. Brit. J. Nutr. 11:288-293.
- Barker**, H. A. 1961. The Bacteria 2:151 1ra. Edici3n. Academic Press. New York.
- Bath**, I. H., and J. A. F. Rook. 1965. The evaluation of the cattle foods and diets in terms of the ruminal concentration of volatile fatty acids. II. Roughages and succulents. J. Agr. 64:67-75.
- Bergman**, E. N., and J. E. Wolff. 1971. Metabolism of volatile fatty acids by liver and portal-drained viscera in sheep. Am. J. Physiol. 221:586-592.

- Blood**, D.C., Studdert P. V. 1994. Diccionario de Veterinaria. Editorial Interamericana, McGraw-Hill. México. Pp. 500
- Burgstaller**, G. 2007. Levadura de Cerveza, un ingrediente proteico de alto valor para los animales domésticos. Unión de cerveceros Barbáros. Escuela Superior General de Kassel. Witzenhausen.
- Buxadé** C. C. 1998. Ovino de Carne. Aspectos claves. Ediciones Mundi-Prensa. México pp. 211-212.
- Castellanos**, A. Llamas, G. Shimada A. 1990. Manual de Técnicas de Investigación en Rumiología. Primera Edición. Sistema de educación Continua en Producción animal en México A.C. México D.F.
- Church**, D. C. and R. G. Petersen. 1960. Effect of several variables on in vitro rumen fermentation. J. Dairy. Sci. 43:81-92.
- Church**, D.C., W. G. Pond K. y R. K. Pond. 2002. Fundamentos de Nutrición y Alimentación de Animales. 2^{da} edición. Uthea-Wiley. Editorial Limusa, S.A. de C.V. Balderas 95, México D.F. Pp. 32, 91, 100.
- Davis**, C. L., R. E. Brown and D. C. Beitz 1964. Effect of feeding high-grain restriced-roughage rations whit and without bicarbonates o the fat content of milk produced and proportions of volatile fatty acids in the rumen. J. Dairy Sci. 47:1217.
- Davis**, C. L. 1979. The use of buffers in rations of lactating dairy cow. Invited paper at regulation of Acid-Base balance Symposium. Tucson, Arizona.
- De Gregorio**, R.M., Tucker, R.E., Mitchell, G.E. & Gill, W.W. 1982. Carbohydrate Fermentation in the Large Intestine of Lambs. J. Anim. Sci. 54:4
- Duran**, R. F. 2006. Biblioteca Agropecuaria Volvamos al Campo. Tomo I. Editorial Grupo Latino. México. Pp. 37
- Emmanuel**, B., L. P. Milligan, and B. V. Turner. 1974. The metabolism of acetate by rumen microorganisms. Can. J. Mcrobiol. 20:183-185.

- Erasmus**, L. J., and P. M. Botha. 1992. Effect of Yeast Culture Supplement on Production, Rumen Fermentation and Duodenal Nitrogen Flow in Dairy Cows. *J. Dairy Sci.* 75:3056-3065.
- Fimbres**, D. H., C. F. Garza., R. F. Picón y G. J. R. Kawa. 2005. Efecto del nivel de fibra sobre la digestibilidad, rumia y pH ruminal de corderos alimentados con raciones energéticas Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia Universidad Autónoma de Nuevo León. Lazaro Cardenas 4600. Unidad Universitaria Mederos. Monterrey, N. L. México
- French**, N. y Kennelly, J. J. 1990. Effects of feeding frequency on ruminal parameters, plasma insulin, milk yield, and milk composition in Holstein cows. *J. of Dairy Sci.* 73:1857-1863.
- García**, E. 1983. Modificaciones al sistema de clasificación de Koopen. Segunda edición. Instituto de Geografía UNAM. México D.F.
- Giesecke**, D. 1970. In: Phillipson, A.T. (Bd.), *Physiology of Digestion and Metabolism in the Ruminant*. Oriel Press, Newcastle upon Tyne, UK, p. 306.
- Hannah**, SM, Stern, MD, Ehle FR, 1986. Evalutaion of a dual flow continuous culture system for estimating bacerial fermentation in vivo of mixed diets containing various soybean products. *Animal Feed Science and Technology*, 16: 51-62.
- Harmon**, D. L., K. L. Gross, C. R. Krehbiel, K. K. Kreikemeier, M. L. Bauer, and R. A. Britton. 1991. Influence of dietary forage and energy intake on metabolism and acyl-CoA synthetase activity in bovine ruminal epithelial tissue. *J. Anim. Sci.* 69:4117-4127.
- Heuter**, F. g., J. C. Shaw and R. N. Doetsch. 1956. Absorption and dissimilation of lactates added to the bovine rumen and the resulting effects on blood glucose. *J. Dairy Sci.* 39:1430-1437.
- Hird**, F. J. R. and Symons, R. H. 1961. The mode of formation of ketone bodies from the rumen and omasum of the sheep. *Biochem. Biophys. Acta.* 46:457-467.

- Hungate**, R. E. 1966. The Rumen and its Microbes. Academic Press, New York.
- Huntington**, G. B., C. K. Reynolds, and H. F. Tyrrell. 1983. Net absorption and ruminal concentrations of metabolites in non pregnant dry Holstein cows before and after intraruminal acetic acid infusion. J. Dairy Sci. 66:1901-1908.
- Johnson**, C. O. L. E., Hurber, J. T., and King, K. J. 1987. Storage and utilization of brewers grains in diets for lactating cows. J. Dairy Sci. 66:73-79.
- Juergenson**, E. M. 1967. Practicas Aprobadas en la Explotación de Ganado Lanar. Segunda Reimpresión. Editorial Continental. S.A. México D.F. Pp. 354
- Kim-Hyeon**, S. 1996. Brewers grain, Wet brewers grain and Brewer's yeast. Animal Feed Resources Information System. Consultado el 12-03-2009 en <http://www.fao.org/ag/aga/AGAP/frg/AFRIS/Data/468.HTM>
- Kincaid**, C. R., Hoover, W. H. y Junkins, L. L. Jr. 1982. The effect of pH and dilution rate on rumen fermentation in continuous culture. J. of Anim. Sci. (Suppl. 1): 411 (Abstr.).
- Koenig** K. M., K. A. Beauchemin and L. M. Rode. 2003. Effect on grain processing and silage on microbial protein synthesis and nutrient digestibility in beef cattle fed barley-based diets. J. Anim. Sci. 81:1057-1067.
- Kohn**, R. A. 1994. Equilibrium concentrations of volatile fatty acids in the rumen. In: Proceedings of the National Conference on Forage Quality, Evaluation, and Utilization, University of Nebraska-Lincoln, Lincoln, NE, p. 51.
- Kung**, L. Jr., Tung, R. S. y Carmean, B. R. 1992. Rumen fermentation and nutrient digestion in cattle fed diets varying in forage and energy source. Animal Feed Science and Technology 39: 1-12.
- Lana**, R. P., J. B. Russell, and M. E. Van Amburgh. 1998. The role of pH in regulating methane and ammonia production. J. Anim. Sci. 76:2190.

- Leng**, R. A., and C. E. West. 1969. Contribution of acetate, butyrate, stearate and oleate to ketone body synthesis in sheep. *Res. Vet. Sci.* 10:57-63.
- Lesur** Luis. 2005. Manual de Cría y Manejo de Borregos: una guía paso a paso. Ed. Trillas. México.
- Lewin** B. A. 2001. Genes VII. Marban. *Saccharomyces cerevisiae* chromocemes.
- Lewis**, S.M. & Dehority, B.A. 1985. Microbiology and ration digestibility in the hindgut of the ovine. *Appl.Environmental Microbiol.* p. 356
- López**, G. 1991. Brewers grain, Wet brewers grain and Brewer's yeast. Animal Feed Resources Información System. Consultado el 12-03-2009 en <http://www.Fao.org/ag/aga/AGAP/fgr/AFRIS/Data/468.HTm>
- Llamas**, R. J. A. 2008. Concentración de Ácidos Grasos Volátiles en Líquido Ruminal de Toretos Charoláis en Engorda Alimentados con Diferentes Niveles de Masilla y Levadura de Cerveza. Tesis Licenciatura UAAAN. Buenavista, Saltillo, Coahuila, México.
- MacDonald** P., Edwards R. y Greenhalgh J. F. D. 1993. Nutrición Animal. 4^a Edición. Editorial Acriba, S. A. Zaragoza, España. Pp. 467-471.
- Mackie**, R. L. y White, B. A. 1990. Recent advances in rumen microbial ecology and metabolism: Potential impact on nutrient output. *J. of Dairy Sci.* 73: 2971-2995.
- Martínez**, R. 1975. Recomendaciones para la Alimentación del Borrego. Revista I.N.I.P. SARH.
- Marty**, R. J. y T. R. Preston. 1970. Proporciones molares de los ácidos grasos volátiles de cadena corta (AGV) producidas en el rumen de Ganado vacuno alimentados con dietas altas en miel. *Rev. Cubana Ciencias. Agric.* 4:189-192.
- Maynard**, L. A., Loosli, J. K., Hintz, H. P. and Warner, R. G., 1992. Nutrición Animal (Animal Nutrition), 7ma Edicion en Español de. McGraw-Hill, México.

- Merry.** RJ, Lee MR, Davies DR, Dewhurst RJ, Moorby JM, Scollan ND, Theodorou MK, 2006. Effects of high-sugar ryegrass silage and mixtures with red clover silage on ruminant.
- Mir,** Z., and P. S. Mir. 1994. Effect of Addition of Live Yeast *Saccharomyces cerevisiae* on Growth and Carcass Quality of Steers Feed High – Forage or High – Grain Diets on Feed Digestibility and in situ Degradability. J. Anim. Sci. 72:537-545.
- Moore,** L. A. 1964. Nutritive value of forage as affected by physical form. General principles involved with ruminants and effects of feeding pelleted or wafered forage to dairy cattle. J. Anim. Sci. 23:230-238.
- Morales^a,** T. H. 2002. Alimentación de Ovinos Primera parte. Unión Ganadera Regional de Nuevo León. Nuevo León México. Consultado el 16-03-2009 en <http://www.unionganaderanl.org.mx/revista/>
- Murphy,** M. R., Baldwin, R. L., y Koong, L. J. 1982. Estimation of stoichiometric parameters for rumen fermentation of roughage and concentrate diets. J. of Anim. Sci. 55: 41 1- 421.
- Mutsvangwa,** T., I. E. Edwards, J. H. Topps, and G. F. M. Paterson. 1992. The effect of dietary inclusion of yeast culture (Yea-Sacc) on patterns of rumen fermentation, food intake and growth of intensively fed bulls. J. Anim. Sci. 72:478.
- Orskov,** E.R. Flatt, W.P. and Moe, P.W. 1968. Fermentation balance approach to estimate extent of fermentation and efficiency of volatile fatty acid formation in ruminants. J. of Dairy Sci. 51:1429-1435.
- Palacio,** H. 1956. Fabricación de Alcohol. Editorial Salvat. S.A. Primera Edición. México.
- Pennington,** R. J., and W. H. Pfander. 1967. The metabolism of short-chain fatty acids in the sheep. Some interrelationships in the metabolism of fatty acids and glucose by sheep-rumen epithelial tissue. Biochem. J. 65:109-111.

- Phillips**, W. A., and D. L. VonTungeln. 1985. The effect of yeast culture on the post stress performance of feeder calves. *Nutr. Rep. Int.* 32:287.
- Preston**, T. R.; R. A. Leng. 1987. Matching Livestock Production with Available Resources in the Tropics and Sub-tropics. Armidale, Penambul Books.
- Ramagosa**, S. A. 1975. Manual de Crianza de Ovinos. Aedos. Barcelona, España, 4^{ta} Edición. Pp. 194-200
- Ramírez**, A., M. E. Ortega., S. González., C. Becerril y J. Ayala. 2003. Efecto de la suplementación con dos cepas de *Saccharomyces cerevisiae* en el comportamiento de becerras en crecimiento. *Revista Cubana de Ciencias Agrícolas*. Tomo 37. Vol. 2. Pp. 131-138.
- Reid**, J. T. 1970, Physiology of digestion and metabolism in the ruminant. Oriel Press, 1ra. Edición pp. 8-9.
- Rodríguez del Ángel**, J. M. 1992. Métodos de Investigación Pecuaria. Editorial Trillas. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Pp. 38 – 45.
- Rodríguez**, S. J. 2008. Las propiedades de la levadura de cerveza. Universidad Autónoma de Yucatán. Consultado el 16-03-2009 en <http://prowinner.com.mx/noticias/verarticulo.php?idArticulo=58>
- Russell**, J. B., and D. B. Wilson. 1996. Why are ruminal cellulolytic bacteria unable to digest cellulose at low pH? *J. Dairy Sci.* 79: 1503 – 1509.
- SAS** Institute. 1999. The SAS system for windows. V. 8 SAS Institute INC. Cary, N. C. U.S.A.
- Santini**, E. J., Hardie, A. R., Jorgensen, N. A. and Finner, M. P. 1983. Proposed use of adjusted intake based on forage particle length for calculation of roughage indexes. *J. Dairy Sci.* 66, 811.
- Scott**, G. E. 1997. The Sheepmans Production Handbook. Sheep Industry Development. Denver, Colorado. Pp. 246

- Seal**, C. J., and D. S. Parker. 1994. Effect of intraruminal propionic acid infusion on metabolism of mesenteric- and portal- drained viscera in growing steers fed a forage diet: I. Volatile Fatty acids, glucose, and lactate. *J. Anim. Sci.* 72:1325-1334.
- Sellers**, A. 1955. 1. Physiology of digestión in the ruminant. Butterworth, Lonterworth, London. La edición. Pp. 390.
- Sep**. 1991. Manuales para la Educación Pecuaria Sección Ovino. Primera Reimpresión. Ed. Trillas. Pp. 94
- Shimada**, M. A. 2003. Nutrición Animal. Primera edición. Ed. Trillas S. A. de C.V. México D.F. Pp. 108-111.
- Shriver**, B. J., Hoover, W. H., Sargent, J. P., Crawford, R. J. Jr. y Thayne, W. V. 1986. Fermentation of a high concentrate diet as affected by ruminal pH and digesta flow. *J. of Dairy Sci.* 69: (4) 13-4 19.
- Slyter**, L. L. 1986. Ability of pH-selected mixed ruminal microbial populations to digest fiber at various pHs. *Applied Environmental and Microbiology* 52:390.
- Smith**, T. 2003. Wet Brewers Grains in Total Mixed Rations. Agriculture Technician Institute. St. John's, N.L.
- Sutton**, J. D. 1985. Digestion and absorption of energy substrates in the lactating cow. *J. of Dairy Sci.* 68:3376-3393.
- Tejada**, I. 1992. Control de calidad y análisis de alimentos para animales. Secretaria de Educación Pública. México D.F. Pp.313.
- Tucker**, R. E., G. E. Mitchel, and C. O. Little. 1968. Ruminal and post ruminal starch digestion in sheep. *J. Anim. Sci.* 27:824-826.
- Trei**, J. E., W. J. Hale and B. Theurer. 1966. Influence of grain processing factors on in vitro fermentation rate. *J. Anim. Sci.* 25: 910 (Resumen).
- Tweedie**, J. W., M. G. Rurnsby and J. C. Hawke. 1966. Studies in rumen metabolism. V. Formation of branched long-chain fatty acids in cultures of rumen bacteria. *J. Sci. Food Agric.* 17:241-244.

- Urrutia** M. J., Ochoa C. M. A. y Beltrán L. S. 2000. La ovinocultura de Agostadero en el Noreste de México. 1^a Edición Universidad Autónoma de San Luís Potosí. INIFAP. San Luís Potosí, México.
- Van Soest**, P.J. 1994. Nutritional Ecology of the Ruminant, 2nd Edition. Cornell University Press, Ithaca, NY.
- Van Soest**, P. J. 1982. Nutritional Ecology of the Ruminant. Corvallis, O & B Books. University Press, Ithaca, NY.
- Wallnofer**, P., and R. L. Baldwin. Pathway. 1967. Enzymatic of propionate formation in bacteroides Ruminococcola. J. Bact. 93:503-504.
- Wegner**, G. H., and E. M. Foster. 1963. Incorporation of isobutyrate and valerate into cellular plasmalogen by Bacteroides succinogenes. J. Bact. 85:53-61.
- West**. 1994. Brewers grain, Wet brewers grain and Brewer's yeast. Animal Feed Resources Information System. Consultado el 12-03-2009 en [http://wwwFao.org/ag/aga/AGAP/fgr/AFRIS/Data/468.HTm](http://www.Fao.org/ag/aga/AGAP/fgr/AFRIS/Data/468.HTm)
- Whanger**, P. D. and G. Matrone. 1967. Metabolism of lactic, succinic and acrylic acids by rumen microorganisms from sheep fed sulfur adequate and sulfur deficient diet. Biochem. Biophys Acta. 136:27-35.
- Williams**, P. E., C. A. Tait, G. M. Innes, and C. J. New bold. 1994. Effects of inclusion of Yeast Culture (*Saccharomyces cerevisiae* Plus Growth Medium) in the Diet of Dairy Cows on Milk Yield and Forage Degradation and Fermentation Patterns on the rumen on Steers. J. Anim. Sci. 69:3016-3022.
- Yokohama**, M.T. & Johnson, K.A. 1988. Microbiología del rumen e intestino. En: El rumiante. Fisiología digestiva y nutrición. Church, D.E. Acribia. p. 137