

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA
ANTONIO NARRO**

DIVISIÓN DE CIENCIA ANIMAL

DEPARTAMENTO DE NUTRICION ANIMAL



“Degradación *in vitro* ajustada a diferentes tasas de flujo ruminal de cuatro nuevos productos alimenticios elaborados a base de subproductos de cervecería (masilla y levadura)”

POR:

MARTIN RUANO MORALES

TESIS

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

INGENIERO AGRÓNOMO ZOOTECNISTA

Buenavista, Saltillo, Coahuila, México

Noviembre 2012

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

DIVISIÓN DE CIENCIA ANIMAL

DEPARTAMENTO DE NUTRICIÓN ANIMAL

“Degradación *in vitro* ajustada a diferentes tasas de flujo ruminal de cuatro nuevos productos alimenticios elaborados a base de subproductos de cervecería (masilla y levadura)”

Por:

MARTIN RUANO MORALES

TESIS

Que se somete a la consideración del H. Jurado Examinador como requisito Parcial para obtener el título de:

INGENIERO AGRÓNOMO ZOOTECNISTA

El presente trabajo ha sido evaluado y aprobado por el siguiente comité

Asesor Principal

Asesor

Dra. Ana Verónica Charles Rodríguez

M.C. Alberto Guerrero Rodríguez

Asesor

Asesor

M.C. Lorenzo Suárez García

M.C. Laura E. Padilla González

Coordinador de la División de Ciencia Animal

Dr. Ramiro López Trujillo

Buenavista, Saltillo, Coahuila, Noviembre 2012

Dedicatoria

A Dios Todopoderoso

Por permitirme culminar con éxito el esfuerzo de todos estos años de estudio. Para Él mi agradecimiento infinito.

A mis padres

Gregorio Ruano Alcaràz y **Maricela Morales Castro** porque creyeron en mí y porque me sacaron adelante, dándome ejemplos dignos de superación y entrega, porque en gran parte gracias a ustedes, hoy puedo ver alcanzada mi meta, ya que siempre estuvieron impulsándome en los momentos más difíciles de mi carrera, y porque el orgullo que sienten por mí, fue lo que me hizo ir hasta el final. Va por ustedes, por lo que valen, porque admiro su fortaleza y por lo que han hecho de mí.

A mi esposa

Carmen Yameli porque gracias a tu apoyo incondicional, a tu paciencia, a tus desvelos y a tu amor que sin dudar me has entregado; he culminado mis estudios con éxito en todos los sentidos. Me he convertido en una persona de bien y alguien importante para la sociedad; Mil gracias por todo lo que me has dado y sobre todo, por la confianza que me has transmitido día con día con tan sólo haber creído en mí.

A mi hija

Para mi pequeña traviesa **Azul Melina** a quien, con el corazón lleno de tristeza, tuve que robarte horas de convivencia y juegos para poder terminar mi carrera. Agradeciéndole que a cambio al verme brille su mirada y corra con alegría hacia mí, brindándome sonrisas y mil besos, demostrándome así su gran cariño. Para ti hija que desde que naciste eres mi mayor ilusión, mi valentía, mi fuerza, mi alegría... la razón de mi vida.

A mi hermana

Leslie Monserrat por su ayuda y apoyo incondicional que me brindó en los momentos que más lo necesité, mis sinceros agradecimientos. Porque gracias a sus atinados consejos pude darle buena dirección a mi vida, porque eres más que mi hermana.

A mi sobrina

Grethel Monserrat por que al igual que mi hija son lo más grande y valioso que Dios me ha regalado, quienes son mi fuente de inspiración y la razón que me impulsa a salir adelante. Porque es una muñequita que me llena de alegría.

A mi cuñado

Carlos Alberto porque eres una persona de admirar, que sabe brindar buenos consejos, y porque sin lugar a duda nos hemos llevado como una verdadera familia. Además de que eres una persona que sabe brindar una sincera amistad incondicional.

A mis abuelos

Juan Morales † y **Cira Castro** ya que gracias a ellos surgió una gran familia de la cual estoy orgulloso de pertenecer, en donde siempre me brindaron su apoyo y su cariño, compartiendo conmigo siempre sus historias, sus conocimientos y sobre todo sus experiencias. Sobre todo una gran mención a mi Abuelito Juan † que desde donde quiera que este se que estará contento porque cumplí su anhelo de que fuera un hombre de bien. Porque siempre estás en mis pensamientos y en mi corazón.

A mis primos

A **Juan Manuel, Walberto, Josué, Tadeo, David**, que son como mis hermanos los cuales al igual que yo sueñan el poder tener una mejor vida en un futuro, porque compartimos juntos durante estos años, alegrías y tristezas. Porque me han brindado consejos acertados para ser un mejor estudiante y sobre todo una mejor persona.

A mi familia en general

Que de una u otra forma me ayudaron y participaron para que lograra el presente éxito profesional. Gracias por sus palabras de aliento y fe en mí.

A mis amigos

Heller, Mercedes, Vianney, Nazario, Junior, Marcos, Estela, Alonso, Luis Ángel, que son muy buenos amigos, y que convivimos durante cuatro años y medio experiencias únicas, que por siempre quedaran en el recuerdo. Gracias por su apoyo, consejos, y sobre todo su amistad incomparable.

Agradecimientos

Definitivamente este trabajo no se habría podido realizar sin la colaboración de muchas personas que me brindaron su ayuda; siempre resultará difícil agradecer a todos aquellos que de una u otra manera me han acompañado en este seminario de titulación para el desarrollo de esta investigación, porque nunca alcanza el tiempo, el papel o la memoria para mencionar o dar con justicia todos los créditos y méritos a quienes se lo merecen. Por tanto, quiero agradecerles a todos ellos cuanto han hecho por mí, para que este trabajo saliera adelante de la mejor manera posible.

Partiendo de esta necesidad y diciendo de antemano ¡MUCHAS GRACIAS! primeramente deseo agradecer especialmente a Dios por ser fuente de motivación en los momentos de angustia y después de varios esfuerzos, dedicación, aciertos y reveses que caracterizaron el desarrollo de mi formación profesional y que con su luz divina me guio para no desmayar por este camino que hoy veo realizado.

A DIOS

Por prestarme vida y salud, para poder haber realizado con éxito mi carrera profesional.

DRA. ANA VERÓNICA CHARLES RODRIGUEZ

Que me brindó la oportunidad de poder realizar mi trabajo de tesis con ella, porque gracias a sus grandes conocimientos pude llevar a cabo con perfección mi investigación, por que sin lugar a duda es uno de los profesores investigadores más destacados de nuestra universidad.

M.C. ALBERTO GUERRERO RODRIGUEZ

Que sin lugar a duda si no fuera por usted, no hubiera podido realizar todo mi trabajo de investigación, gracias por su paciencia, por su entrega, por su entusiasmo, por sus consejos atinados y sobre todo por sus grandes conocimientos brindados hacia mi trabajo. Me faltan palabras para poder

agradecer todo lo realizado hacia mi persona. No me queda más que decirle con toda la sinceridad del mundo que muchas gracias por todo.

M.C. LORENZO SUAREZ GARCIA

Gracias por ser un maestro incomparable, porque sabe llevar por el buen camino a los alumnos, porque se distingue entre los demás, porque abre sus conocimientos para poder entregarlos a los semejantes, gracias por sus sabios consejos que en algún momento dado me hicieron recapacitar ante las circunstancias de la vida. De corazón muchas gracias.

M.C. LAURA E. PADILLA GOZÀLEZ

Por haber aceptado el ser parte de los profesores distinguidos que evaluarán mi trabajo de investigación, y porque también se ha caracterizado por ser una profesora entregada a su trabajo. Muchas gracias.

A MI ALMA TERRA MATER

Por ser una escuela tan noble que entrega a la sociedad grandes frutos hechos profesionistas, porque gracias a sus enormes profesores que laboran aquí con ella, se pueden obtener egresados con gran sabiduría para un mejor futuro para México. Gracias por cobijarme durante cuatro años y medio, y permitirme empaparme de todos esos conocimientos que sin lugar a duda algún día no muy lejano darán de que hablar. Gracias por haber permitido conocer a grandes profesores, a grandes amigos y a muy buenas personas.

La presente investigación se realizó en el marco de las actividades del proyecto **“Formulación, elaboración, caracterización y evaluación de un alimento para ganado ovino empleando subproductos de la industria cervecera”**, con clave **0203-0402-2292**, dicho proyecto financiado por la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, contando con la colaboración de:

- Dra. Ana Verónica Charles Rodríguez.
- Dr. Jesús Manuel Fuentes Rodríguez.
- Dr. Ramón Florencio García Castillo.
- Dr. Fernando Ruíz Zárate
- Dra. Diana Jasso Cantú
- Dr. Jairo Iván Aguilera Soto.
- M.C. Alberto Guerrero Rodríguez.
- Fertilizantes Orgánicos Biogenix® S. de R.L. de C.V
- Cervecería Cuauhtémoc Moctezuma

RESUMEN

El objetivo del presente trabajo fue evaluar la respuesta de degradación *in vitro* de la materia seca de diferentes combinaciones de masilla y levadura de cerveza en combinación con otros subproductos agroindustriales. Fueron evaluados cuatro tratamientos con diferentes contenidos de masilla y levadura: **T1** 20% masilla, 0% levadura, **T2** 0% masilla, 15% levadura, **T3** 18% masilla 5% levadura, **T4** 0% masilla 9% levadura. En la degradación *in vitro* de los cuatro tratamientos se observó un comportamiento normal, a mayor tiempo mayor degradación, sin embargo el **T3** (18% masilla 5% levadura), para el tiempo cero presento mayor pérdida de material en base a su contenido soluble; pero para el resto de los tiempos (6, 12, 24, 48,72 y 96 h) fue el que obtuvo menor degradación. Al realizar el ajuste a diferentes tasa de flujos, se encontraron diferencias significativas ($P < 0.05$) a una tasa ruminal fraccional de **0.04, 0.05, 0.06, 0.07, 0.08, 0.09**. Mientras que para una tasa ruminal de **0.01, 0.02, 0.03, 0.010, 0.011, 0.012** no se reportaron diferencias significativas entre tratamientos ($P > 0.05$). Sin embargo el **T3** 18% masilla 5% levadura obtuvo mayor degradación contradiciendo lo encontrado en la degradación *in vitro* en un sistema cerrado. Considerando lo anterior, con la tasa de flujo ruminal se puede regular el tiempo que dura el alimento en el rumen para poder utilizar combinaciones de ingredientes que produzcan mejores niveles de digestión. Los ajustes de tiempo se pueden realizar manipulando los insumos con los que se pueden combinar las presentes mezclas alimenticias para aumentar el tiempo de retención ruminal y así tener un mayor aprovechamiento del alimento y mayor cantidad de combinaciones útiles.

Palabras claves: degradación, *in vitro*, digestibilidad

Índice

| | |
|---|-----|
| Dedicatoria..... | iii |
| Agradecimientos..... | vi |
| RESUMEN..... | ix |
| I. INTRODUCCIÓN..... | 6 |
| 1.1 Justificación..... | 6 |
| 1.2 Hipótesis..... | 7 |
| 1.3 Objetivo general..... | 7 |
| 1.3.1 Objetivos específicos..... | 7 |
| II. REVISION DE LITERATURA..... | 8 |
| 2.1 Concepto de alimento..... | 8 |
| 2.2 Valor nutritivo de los alimentos..... | 8 |
| 2.3 Composición química de los alimentos..... | 8 |
| 2.3.1 El agua..... | 9 |
| 2.3.2 Los carbohidratos..... | 10 |
| 2.3.2.1 Azúcares sencillos..... | 10 |
| 2.3.2.2 Carbohidratos no estructurales o de almacenamiento..... | 11 |
| 2.3.2.3 Carbohidratos estructurales..... | 11 |
| 2.3.3 Componentes nitrogenados..... | 12 |
| 2.3.3.1 Proteína..... | 12 |
| 2.3.3.2 Nitrógeno no proteico..... | 13 |
| 2.3.4 Lípidos..... | 13 |
| 2.3.4.1 Los triglicéridos..... | 14 |
| 2.3.4.2 Galactolipidos..... | 14 |
| 2.3.5 Vitaminas..... | 15 |
| 2.3.5.1 Hidrosolubles..... | 15 |
| 2.3.5.1.1 Vitamina B12..... | 15 |
| 2.3.5.1.2 B1 o Tiamina..... | 16 |
| 2.3.5.1.3 B3 o Niacina..... | 16 |
| 2.3.5.1.4 B7 o Colina..... | 16 |
| 2.3.5.2 Liposolubles..... | 17 |
| 2.3.5.2.1 Vitamina A..... | 17 |
| 2.3.5.2.2 Vitamina D..... | 17 |
| 2.3.5.2.3 Vitamina E..... | 18 |

| | |
|--|----|
| 2.3.5.2.4 Vitamina K..... | 18 |
| 2.3.6 Minerales | 18 |
| 2.4 Digestibilidad | 19 |
| 2.4.1 Factores que afectan la digestibilidad | 19 |
| 2.4.1.1 Factores asociados al alimento | 20 |
| 2.4.1.2 Factores asociados al animal..... | 20 |
| 2.4.2 Fermentación ruminal | 20 |
| 2.4.2.1 Características del rumen | 21 |
| 2.4.2.1.1 Temperatura del rumen | 21 |
| 2.4.2.1.2 PH del rumen..... | 22 |
| 2.4.2.1.3 Capacidad buffer | 23 |
| 2.4.2.1.4 Potencial redox..... | 23 |
| 2.4.2.1.5 Presión osmótica..... | 24 |
| 2.4.2.1.6 Tasa de paso en el rumen..... | 25 |
| 2.4.2.2 Ecología ruminal..... | 26 |
| 2.4.3 Degradación ruminal de componentes del alimento..... | 30 |
| 2.4.3.1 Degradación de carbohidratos | 30 |
| 2.4.3.2 Degradación ruminal de la proteína | 34 |
| 2.4.3.3 Degradación de los lípidos | 35 |
| 2.4.3.4 Degradación de compuestos nitrogenados | 37 |
| 2.4.4 Técnicas para evaluar la digestibilidad | 40 |
| 2.4.4.1 Digestibilidad <i>in vitro</i> | 41 |
| 2.4.4.1.1 Digestor DAISY | 41 |
| 2.4.4.2 Digestibilidad in situ | 42 |
| 2.4.4.3 Factores que afectan la digestibilidad a nivel experimental..... | 43 |
| 2.4.4.2.1 Tamaño de los poros de la bolsa. | 43 |
| 2.4.4.2.2 Tamaño de la partícula..... | 44 |
| 2.4.4.2.3 Tamaño de la bolsa y cantidad del alimento | 45 |
| 2.4.4.2.4 Residuos microbianos | 45 |
| 2.4.4.2.5 Acumulación de gas dentro de la bolsa | 46 |
| 2.4.4.2.6 Relación de la dieta y degradación ruminal..... | 47 |
| 2.4.4.3 Digestibilidad in vivo | 47 |
| 2.5 Subproductos de la industria cervecera..... | 48 |
| 2.5.1 Masilla | 48 |

| | |
|---|----|
| 2.5.1.1 Aspectos nutricionales de la masilla | 49 |
| 2.5.1.2 Proceso de obtención..... | 50 |
| 2.5.2 Levadura..... | 51 |
| 2.5.2.1 Tipos de levadura | 52 |
| 2.5.2.1.1 Levadura activa..... | 52 |
| 2.5.2.1.2 Levadura inactiva..... | 52 |
| 2.5.2.1.3 Levadura inactiva enriquecida | 53 |
| 2.5.2.2 Levadura como subproducto de la industria cervecera..... | 53 |
| 2.5.4 Uso de la levadura en otras especies de rumiantes..... | 58 |
| III. MATERIALES Y METODOS..... | 60 |
| 3.1 Elaboración de las muestras experimentales..... | 60 |
| 3.2 Análisis de las muestras..... | 61 |
| 3.3 Determinación de la degradación <i>in vitro</i> | 61 |
| 3.3.1 Obtención del líquido ruminal | 62 |
| 3.3.2 Incubación de las muestras | 63 |
| 3.4 Ajuste de la cinética de degradación a diferentes tasas de flujo ruminal | 64 |
| 3.5 Análisis estadístico | 64 |
| IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN..... | 65 |
| 4.1 Caracterización química..... | 65 |
| 4.2 Cinética de degradación de la materia seca | 66 |
| 4.3 Degradación de la materia seca ajustada a diferentes tasas de flujo ruminal | 70 |
| V. CONCLUSIONES..... | 73 |
| VI. LITERATURA CITADA | 74 |
| ANEXO..... | 85 |

Índice de figuras

| | |
|--|----|
| Figura 2.1.- Composición general de los alimentos utilizados en la nutrición de rumiantes. | 9 |
| Figura 2.2.- Estructura básica de los triglicéridos. Los radicales (R1, R2, y R3) consisten de una cadena de carbonos de longitud y saturación variable..... | 14 |
| Figura 2.3.- Clasificación morfológica de las bacterias en el rumen ¡Error! Marcador no definido. | 8 |
| Figura 2.4.- Metabolismo de los carbohidratos en el rumiante | 31 |
| Figura 2.5.- Diferentes vías de fermentación de los glúcidos | 32 |
| Figura 2.6.- Metabolismo de los lípidos en el rumen: los distintos sustratos y sus productos finales. | 37 |
| Figura 2.7.- esquema de la degradación de la proteína en el rumen | 40 |
| Figura 2.8.- Proceso de elaboración de la cerveza y etapas donde se generan los subproductos. | 51 |
| Figura 4.1.- Cinética de degradación de la materia seca estimada como porcentaje de degradación <i>in vitro</i> para cada uno de los cuatro tratamientos. A: tratamiento 1; B: tratamiento 2; C: tratamiento 3 y D: tratamiento 4..... | 68 |
| Figura 4.2.- Comportamiento de los niveles de degradación de la materia seca en diferentes tratamientos alimenticios elaborados a base de subproductos de cervecería (masilla y levadura de cerveza) ajustados a distintas tasas de flujo ruminal (0.04, 0.07 y 0.09/h) | 71 |

Índice de cuadros

| | |
|--|--|
| Cuadro 2.1.- Efecto de diferentes modificantes del pH sobre la capacidad búfer del fluido ruminal. | ¡Error! Marcador no definido. 5 |
| Cuadro 2.2.- Clasificación funcional de las bacterias ruminales | 27 |
| Cuadro 2.3.- Clasificación de protozoarios según su afinidad al sustrato | 29 |
| Cuadro 2.4.- Biohidrogenación de ácidos grasos insaturados en el rumen (dietas conteniendo diferentes fuentes de lípidos). | ¡Error! Marcador no definido. 6 |
| Cuadro 2.5.- Características químicas y nutritivas de la levadura de cerveza | 54 |
| Cuadro 2.6.- Concentración ruminal de AGV`s, porcentajes molares y pH de líquido ruminal de vacas alimentadas con diferentes niveles de levadura en la ración..... | 58 |
| Cuadro 3.1.- Formulas alimenticias utilizadas para la elaboración de los productos peletizados a base de subproductos agroindustriales. | 61 |
| Cuadro 4.1.- Análisis bromatológico, correspondiente a los cuatro tratamientos utilizados en esta investigación..... | 65 |
| Cuadro 4.2.- Nivel de degradación de la materia seca de diferentes tratamientos elaborados a base de subproductos agroindustriales. | 66 |
| Cuadro 4.3.- Punto máximo de degradación de la materia seca (MDMS) y tiempo requerido para alcanzar este nivel en diferentes mezclas alimenticias elaboradas a base de subproductos de cervecería. | 69 |
| Cuadro 4.4.- Nivel de degradación de los tratamientos elaborados a base de subproductos, ajustados a diferentes tasas de flujo ruminal..... | 70 |

I. INTRODUCCIÓN

En una explotación ganadera los productos finales que vamos a obtener para la venta son los que nos van a reportar los ingresos. Una vez que la explotación está establecida (infraestructura y animales en producción) lo que más costos genera es el concepto de alimentación. Se han realizado numerosos estudios que demuestran que la alimentación constituye entre el 60-70% de los gastos totales de la explotación (Caravaca, 2003).

Es por esto que se tienen que buscar diversas alternativas en la alimentación animal, buscando siempre satisfacer las necesidades de los animales al menor costo. Una de las opciones es la utilización combinada de diversos subproductos agroindustriales; según Guerrero, (2009) estos subproductos representan un uso potencial en la alimentación de un rumiante, debido primeramente a su bajo costo y a su alto valor nutritivo. Sin embargo, a pesar de la disponibilidad, bajo costo y a las diversas propiedades nutricionales encontradas en los subproductos, en la actualidad no se están aprovechando de manera óptima debido a que diversos factores restringen su incorporación en dietas integrales para ganado, constituyendo el contenido de humedad la principal limitante al momento de su incorporación en la alimentación de rumiantes.

1.1 Justificación

Para aceptar un alimento elaborado a base de subproductos en las dietas de rumiantes se requiere analizar y determinar mediante distintos análisis cual puede ser la mejor combinación de los subproductos que mejores resultados generara en cuestiones de digestión. Lo anterior produce información relevante que puede ser utilizada para posteriormente evaluar la respuesta animal al ser alimentado con determinada combinación de subproductos. En ocasiones evaluar la degradación de diferentes combinaciones de ingredientes permite tomar decisiones respecto a aceptar o no un nuevo producto alimenticio, aun

sin llegar a realizar pruebas de comportamiento. Lo anterior adquiere importancia debido a que evaluar aspectos de la digestión de un alimento tiene una amplia relación con el comportamiento productivo y por lo tanto con el aspecto económico de la explotación.

1.2 Hipótesis

La adición de masilla y levadura de cerveza en combinación de subproductos agroindustriales produce mayores niveles de degradación cuando se utilizan de forma conjunta que cuando se utilizan de forma independiente.

1.3 Objetivo general

Evaluar la respuesta de degradación *in vitro* de la materia seca de diferentes combinaciones de subproductos agroindustriales.

1.3.1 Objetivos específicos

- Caracterizar químicamente cuatro nuevos productos peletizados elaborados en la Universidad mediante la realización de análisis bromatológico.
- Analizar la degradación de los nuevos productos alimenticios mediante una técnica *in vitro* (Incubador Daisy)
- Determinar mediante análisis de regresión el comportamiento de la degradación de la materia seca por unidad de tiempo de cada uno de los subproductos.
- Ajustar los resultados obtenidos a distintas tasas de flujo ruminal.

II. REVISION DE LITERATURA

2.1 Concepto de alimento

Un alimento puede ser considerado como cualquier componente de una dieta o ración que aporta los nutrientes necesarios para el organismo animal (Gaggiotti, 2008). En este contexto, los nutrientes son compuestos orgánicos y/o inorgánicos esenciales para los procesos metabólicos estos pueden ser (carbohidratos, compuestos nitrogenados, lípidos, Vitaminas, y Minerales, entre otros). Además de lo anterior, un alimento también puede ser utilizado para dar sabor, dar color y en algunas ocasiones para reducir el estrés y/o mejorar la palatabilidad, así como proveer de volumen o preservar el alimento.

2.2 Valor nutritivo de los alimentos.

El valor nutritivo de un alimento está determinado por la cantidad de componentes nutritivos que contiene dicho alimento pero además por la disponibilidad de éstos para ser digeridos y asimilados por el animal. En otras palabras, cuanto más y mejores principios nutritivos tenga un alimento mejor calidad tendrá y mayores producciones se obtendrán (Caravaca, 2003).

Por su parte Gaggioti, (2008) señala que el valor nutritivo de los alimentos está determinado por:

- la concentración de nutrientes,
- la digestibilidad de esos nutrientes y
- la naturaleza de los productos finales de la digestión.

2.3 Composición química de los alimentos.

Los alimentos en general, salvo los alimentos minerales y el agua, son compuestos orgánicos cuya base es la combinación de cuatro elementos principales: carbono, hidrógeno, oxígeno y nitrógeno, con otros elementos que se encuentran en menor proporción P, S, Cl, Ca, Na, Mg, K. Además existen

otros elementos que figuran en cantidades mínimas pero no menos indispensables para el metabolismo nutricional: Fe, Mn, Co, etc. Todos estos elementos aparecen agrupados en combinaciones químicas (figura 2.1) que dan la naturaleza fundamental a los alimentos (Caravaca, 2003).

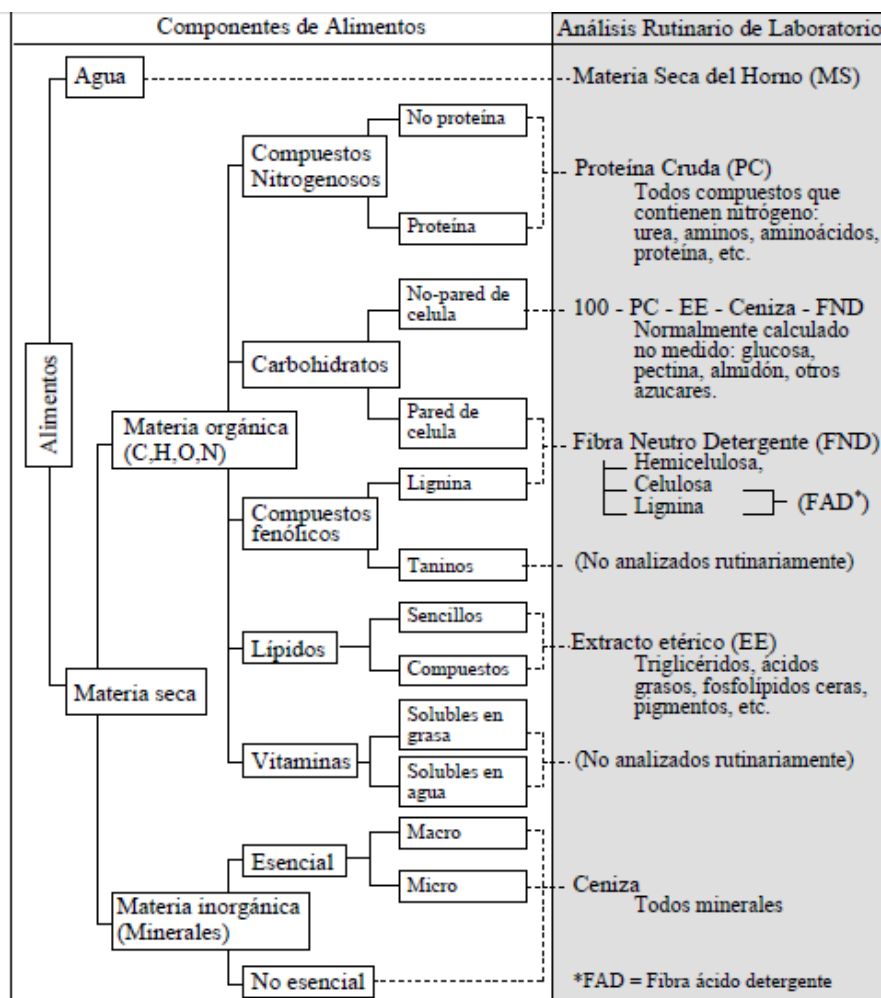


Figura 2.1.- Composición general de los alimentos utilizados en la nutrición de rumiantes (Wattiaux, 2005).

2.3.1 El agua

El contenido de agua de los alimentos está sujeto a un amplio rango de variación. Puede oscilar desde un 8 % o menos en los alimentos secos (granos y rastrojos) hasta un 80-90 % en los alimentos succulentos (forrajes muy tiernos, raíces y tubérculos) (Church, 1993).

En general, la mayoría de los vegetales que se ofrecen para pastoreo contienen de 70 a 80% agua. Los silajes contienen entre 60 a 70% de agua. Las semillas, henos y muchos subproductos industriales (afrechillos, expellers) contienen de 8 a 12% agua (Maiztegui, 2008).

El agua no aporta ningún elemento nutritivo como tal en cuanto a energía o proteína pero va a estar presente en todos los alimentos. Siempre se va a tener muy en cuenta el contenido en agua de un alimento, para su conservación y para la determinación de su valor nutritivo (Caravaca, 2003).

2.3.2 Los carbohidratos

Los carbohidratos son las fuentes principales de energía en las dietas de las vacas lecheras. Entre 50 y 80% de la materia seca del forraje y de los granos son carbohidratos. Tres clases principales de carbohidratos existen en los alimentos: a) Azúcares sencillos (por ejemplo, glucosa y fructuosa); b) Los carbohidratos de almacenamiento, llamados carbohidratos no estructurales (por ejemplo, almidón y fructosos); c) Los carbohidratos estructurales o fibrosos (celulosa y hemicelulosa) (Maiztegui, 2008).

La degradación y fermentación de los carbohidratos estructurales en el rumen se realiza en tres fases:

- ✓ Colonización por los microorganismos de las partículas vegetales.
- ✓ Disociación de los polisacáridos de la pared celular e hidrólisis de éstos en unidades más pequeñas.
- ✓ Fermentación intracelular de estas unidades de bajo peso molecular (Russell y Hespell, 1981).

2.3.2.1 Azúcares sencillos

Son el producto inicial de fotosíntesis de la planta. Se encuentran en las paredes de las células y son las unidades de construcción para carbohidratos más complejos, tienen características importantes, como nutrientes solubles en agua que fácilmente los ponen a disposición del animal, no solo a los

microorganismos del rumen, sino también, a la digestión (post ruminal) (abomaso e intestinos). Aportan un sabor dulce que mejora la palatabilidad de la parte de la planta donde están acumulados (Maiztegui, 2008).

2.3.2.2 Carbohidratos no estructurales o de almacenamiento.

Son compuestos activos en el metabolismo de la planta, se almacenan en órganos de reserva y están constituidos principalmente por azúcares libres. (Gaggiotti, 2008). Y la forma principal de carbohidrato de almacenamiento en plantas es el almidón. El almidón está compuesto de muchas moléculas de glucosa depositada en forma granular. El tamaño y forma de los gránulos varían según la planta. Los gránulos de almidón son insolubles en agua y no tienen sabor. La estructura de las gránulos de almidón afecta la rapidez con la que pueden ser digeridas. Por ejemplo, el almidón en un grano de maíz es mucho más resistente a la degradación por microbios que el almidón en granos pequeños (avena y trigo) o tubérculos (papas). Si no hay una cantidad excesiva de almidón en la dieta, es casi totalmente digerido por los microbios del rumen o las enzimas digestivas de la vaca (Maiztegui, 2008).

2.3.2.3 Carbohidratos estructurales

La celulosa es el carbohidrato más abundante de la naturaleza. La celulosa y la hemicelulosa son los azúcares que, con la lignina, aportan la estructura a la planta. El almidón y los carbohidratos estructurales tienen los mismos azúcares como componentes primarios; sin embargo, difieren en el modo en que los azúcares están ligados. Esta diferencia tiene consecuencias nutricionales importantes (Maiztegui, 2008).

Los carbohidratos estructurales son causantes de la fibrosidad del alimento, no están disponibles para el metabolismo energético de la planta, son insolubles en agua y poseen una fermentabilidad potencial lenta y limitada (Gaggiotti, 2008).

2.3.3 Componentes nitrogenados

El nitrógeno (N) de los alimentos puede dividirse en dos grupos principales: proteína verdadera (PV) y nitrógeno no proteico (NNP) soluble, obviando los ácidos nucleicos y otras formas de NNP. En los forrajes el contenido de ácidos nucleicos es insignificante pero los productos fermentados, ricos en microorganismos, pueden tener una cantidad apreciable de estos componentes (Gaggiotti, 2008).

2.3.3.1 Proteína

Las proteínas proveen los aminoácidos requeridos para el mantenimiento de funciones vitales como reproducción, crecimiento y lactancia. (Wattiaux, 2005). La proteína en alimentos tiene un promedio de 16% nitrógeno (Maiztegui, 2008).

Los actuales sistemas de evaluación de proteína para el ganado (ARC, NRC, INRA) separan la proteína del alimento en proteína que se degrada en el rumen (proteína degradable) de la proteína que se escapa de la degradación ruminal y pasa al intestino delgado (proteína no degradable). La proteína soluble se encuentra dentro de la fracción de proteína degradable. La proteína que se fermentará en el tracto digestivo posterior y la insoluble que está ligada a la fibra, se encuentran dentro de la fracción de proteína no degradable (Gaggiotti, 2008).

En la planta y algunos alimentos, la proteína puede estar ligada a la pared de la célula, pero la mayoría se solubiliza dentro del contenido de la célula, (por ejemplo clorofila, que es responsable para la fotosíntesis). Sin embargo, algunos forrajes contienen taninos que se asocian con proteínas y aumentan la resistencia de la degradación ruminal (Maiztegui, 2008).

Las proteínas que se encuentran en los granos son menos solubles y más resistentes a la degradación por microorganismos del rumen (Maiztegui, 2008).

2.3.3.2 Nitrógeno no proteico

Cuando la proteína es un elemento costoso de suplementar, el metabolismo ruminal aporta la posibilidad de reemplazar una parte de las proteínas de la dieta por alguna fuente de NNP más económica, como la urea. Sin embargo, esta alternativa se va perdiendo a medida que el animal aumenta su producción y en consecuencia aumentan también sus requerimientos proteicos, haciendo que dependa cada vez más para cubrirlos de la fracción de proteína verdadera que pasa al intestino sin degradarse en el rumen (proteína pasante o by pass) (Relling y Mattioli, 2002).

2.3.4 Lípidos

Son sustancias insolubles en agua y solubles en disolventes no polares (éter o alcoholes). Están formados también por C, H y O, como los glúcidos, pero en distinta combinación. Son sustancias de reserva energética, pero de una capacidad de acumulo de energía tres veces superior a los glúcidos. Además tienen una función estructural al depositarse entre los diferentes tejidos y órganos (Caravaca, 2003).

Generalmente la dieta de los rumiantes es normalmente escasa en lípidos debido a que su contenido en los forrajes es muy bajo (1-4%). Este tipo de dietas, con predominancia de fibra, ha conferido ciertas adaptaciones a los rumiantes, de manera que ellos son intolerantes a elevados niveles de grasa en el medio ruminal (Gaggiotti, 2008).

Los lípidos de los forrajes son alterados durante la digestión en los preestómagos, en virtud del proceso de hidrogenación de ciertas especies microbianas, de manera que los lípidos que el animal absorbe son bien diferentes a los que ingiere. Desde el punto de vista cuantitativo, los lípidos pueden ser agrupados en los siguientes (Gaggiotti, 2008).

- a) los compuestos de reserva en las semillas (triglicéridos);
- b) los lípidos de las hojas (galactolípidos)
- c) las ceras, carotenoides, clorofila, aceites esenciales, etc.

2.3.4.1 Los triglicéridos

Los triglicéridos son la forma más abundante de lípidos en la naturaleza. Se encuentran principalmente en los granos de cereales, semillas oleaginosas y grasas de origen animal. (Wattiaux, 2005). Se componen de tres ácidos grasos ligados a una molécula de glicerol (figura 2.2) (Maiztegui, 2008).

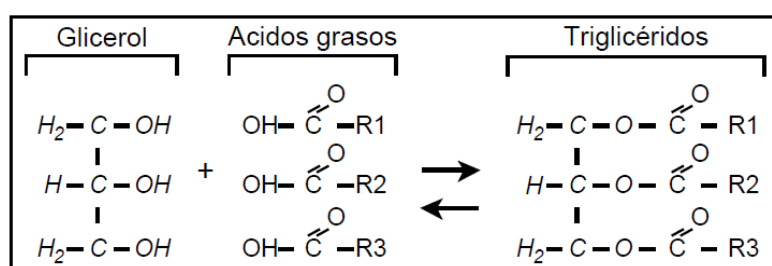


Figura 2.2- Estructura básica de los triglicéridos. Los radicales (R1, R2, y R3) consisten de una cadena de carbonos de longitud y saturación variable (Wattiaux, 2005).

2.3.4.2 Galactolípidos

Son parte de los glicolípidos, que estos a su vez son lípidos encontrados en gramíneas y leguminosas; se diferencia de los triglicéridos en que uno de los tres ácidos grasos ha sido reemplazado por un azúcar (usualmente galactosa). Cuando uno de los ácidos grasos esta reemplazado con un fosfato ligado a otra estructura compleja, el lípido se llama fosfolípido. Los fosfolípido son componentes menores en los alimentos, encontrados principalmente en las bacterias del rumen (Wattiaux, 2005).

Los ácidos grasos encontrados en los lípidos de las plantas varían de 14 a 18 carbonos (Wattiaux, 2005).

2.3.5 Vitaminas

Las vitaminas son nutrientes orgánicos requeridos en cantidades pequeñas para numerosas funciones bioquímicas diferentes y en general no pueden sintetizarse en el organismo y, por lo tanto, deben recibirse de los alimentos (Gaggiotti, 2008).

Se clasifican en dos grupos:

- Hidrosolubles (complejo vitamínico B y el ácido ascórbico -vitamina C-) y
- Liposolubles (A, D, E, K) (Bauer, *et al.*2009).

2.3.5.1 Hidrosolubles

Estas son solubles en agua, y se encuentran principalmente todas las pertenecientes al grupo de vitaminas B. De las vitaminas hidrosolubles, se sabe que las del complejo B se requieren como cofactores en sistemas enzimáticos de las principales vías metabólicas de los animales (Church, 1974). Estas vitaminas se sintetizan mediante fermentación microbiana en el tracto digestivo, en particular de rumiantes y herbívoros no rumiantes (conejo y caballo), desde las ocho semanas de edad (Grudsky, *et al.*, 1983).

2.3.5.1.1 Vitamina B12

Es la molécula más larga de las vitaminas del complejo B y tiene la estructura más compleja. Puede ser sintetizada solo por bacterias y se requiere para su síntesis, un átomo de cobalto (Co) para formar una molécula de la vitamina B12 (Christensen, 1998).

Contiene el 4,5 % de Cobalto, las formas naturales son adenosincobalamina y metilcobalamina. Estos se encuentran en plantas y tejido animal. Las funciones primarias de la Vitamina B12 es estar involucrada en el metabolismo de ácidos nucleicos, proteínas, grasas y carbohidratos. En la

alimentación del rumiante es muy importante en el metabolismo del Ácido Propiónico (Bauer, *et al.*2009)

En rumiantes jóvenes, la deficiencia puede ocurrir cuando la flora ruminal no alcanza la población suficiente, como por ejemplo en situaciones de stress (Bauer, *et al.*2009)

2.3.5.1.2 B1 o Tiamina

Constituye una coenzima de la carboxilasa, interviene en los procesos de producción de energía en el cuerpo y metabolismo de la glucosa (Bauer, *et al.*2009). La tiamina es un importante de reacciones bioquímicas en la génesis de glucosa para aportar energía hacia el cerebro (Bauer, *et al.*2009).

2.3.5.1.3 B3 o Niacina

Niacina es muy importante en rumiantes porque es requerida en hígado para la destoxicación de la sangre portal, en el paso de amonio a urea y metabolismo hepático de ketonas en ketosis. Tenemos tres fuentes primarias de niacina: dietaria, conversión del triptófano y síntesis ruminal. Normalmente es sintetizada en el rumen, muchos factores pueden actuar sobre los requerimientos de niacina, como por ejemplo, balance proteico (aminoácidos), dieta energética en uso, rancidez del alimento, cantidad de niacina en la ración (Christensen, 1998)

2.3.5.1.4 B7 o Colina

Es esencial construcción y mantenimiento de la estructura celular y en la formación de acetilcolina, componente responsable de la transmisión del impulso nervioso. Mientras que todas las grasas naturalmente tienen colina, poca información está disponible sobre el contenido de colina en la dieta. A diferencia de la mayoría de las vitaminas, colina puede ser sintetizada por casi todas las especies animales, de todas maneras es recomendado que a

terneros en lactancia reciban una suplementación de 0.26 % de colina en el sustituto de la leche (Bauer, *et al.*2009)

2.3.5.2 Liposolubles

En cuanto a las vitaminas liposolubles, los rumiantes dependen de los aportes de los alimentos, particularmente para las vitaminas A y E, y en menor medida para las del grupo D (Bauer, *et al.*2009). De las vitaminas liposolubles, solo la vitamina K es sintetizada en el rumen, a excepción de animales jóvenes o condiciones anormales (Church, 1974).

2.3.5.2.1 Vitamina A

Es la más importante en la alimentación del ganado, es esencial para el crecimiento normal, reproducción, mantenimiento del tejido epitelial, y desarrollo de huesos. La Vitamina A no existe como tal, las plantas poseen sus precursores como los carotenos, los cuales son convertidos en el cuerpo a retinol. Este proceso en rumiantes es más bajo que en no-rumiantes. La ausencia de esta vitamina resulta, en cambio de tejidos e íntima relación con la visión, desarrollo óseo, estructura epitelial y mantenimiento (Church, 1974).

Los signos de deficiencia se presentan en las siguientes ocasiones: - Dietas de alta concentración

- Pasturas de invierno o rastrojos, rollos o fardos producidos en época de sequía
- Alimentos muy expuestos a la luz solar, aire y altas temperaturas
- Alimentos altamente procesados o mezclados con oxidantes como son los minerales.
- Forrajes guardados por largos periodos de tiempo (Bauer, *et al.*2009).

2.3.5.2.2 Vitamina D

Se requiere para la absorción de calcio y fósforo, para una normal mineralización de los huesos, para movilizar calcio y para la regulación de función en células del sistema Inmunológico. La Vitamina D se absorbe en el tracto intestinal con lípidos y sales biliares (Church, 1974). No hay reservorio en el cuerpo de esta Vitamina ya que esta se sintetiza cuando el animal se expone a la luz solar o se alimenta con forrajes curados al sol. Raramente se recomienda suplementarla, en terneros su deficiencia provoca Raquitismo, el cual es producido por no asimilar y no usar adecuadamente el calcio y fósforo (Christensen, 1998)

2.3.5.2.3 Vitamina E

En estado natural se encuentra como tocoferol, no se encuentran grandes reservas en el cuerpo, se encuentra en el hígado y en tejido adiposo, esta vitamina cumple numerosas funciones, incluyendo un rol como antioxidante ínter e intracelular y en la formación de los componentes estructurales de las membranas biológicas. La cantidad requerida se estima en 7 a 27 UI/lb/m seca (Church, 1974).

2.3.5.2.4 Vitamina K

El término Vitamina K se utiliza para describir un grupo de quinonas-liposolubles con características anti-hemorrágicas. Dos fuentes naturales de Vitaminas K son: "filo-quininas" (Vit K1) que se encuentra en plantas/pasturas y "mena-quinina" (Vit K2) producidas por la flora ruminal (Bauer, *et al.*2009)

2.3.6 Minerales

Los minerales (solos, asociados entre sí o combinados con grupos orgánicos) forman parte de los alimentos y cumplen importantes funciones en el organismo animal, por lo que estos elementos químicos deben estar presentes en la dieta de los animales, en cantidades adecuadas. Su déficit (o eventual exceso) puede ocasionar cuantiosas pérdidas. (Underwood, 1984; Guerrero, 2011). Se han identificado como mínimo 15 minerales considerados esenciales para los rumiantes. De ellos siete son macro elementos (Calcio,

Sodio, Potasio, Fósforo, Cloro, Azufre y Magnesio) y ocho micro elementos (Cobre, Cobalto, Iodo, Hierro, Manganeseo, Molibdeno, Selenio y Zinc). Un elemento mineral es considerado esencial si su deficiencia en la dieta es capaz de producir daño funcional y/o estructural (Gaggiotti, 2008).

La función de los minerales puede dividirse en cuatro áreas principales: a) Formación del esqueleto y mantenimiento, incluyendo la formación de huesos y dientes, b) Energía, incluyendo las minerales que forman parte de enzimas y otros componentes del cuerpo, esenciales para producción de energía y para otras actividades necesarias para el normal crecimiento y reproducción, c) Producción de leche y d) funciones básicas del cuerpo como por ejemplo sistema nervioso (Bauer, *et al.*2009).

2.4 Digestibilidad

La digestibilidad es una forma de medir el aprovechamiento de un alimento, es decir, la facilidad con que es convertido en el aparato digestivo en sustancias útiles para la nutrición. Comprende dos procesos, la digestión que corresponde a la hidrólisis de las moléculas complejas de los alimentos, y la absorción de pequeñas moléculas (aminoácidos, ácidos grasos) en el intestino. (Manríquez, 2007). El análisis de la digestibilidad de los alimentos es de gran importancia, ya que existen diferentes moléculas que son fácilmente absorbibles y otras que son resistentes a la degradación (Minson 1982).

La digestión de un ingrediente depende de los siguientes factores importantes: a) La cantidad del ingrediente, b) Las propiedades intrínsecas del mismo y c) La interacción entre los ingredientes. La tasa de digestión es la interpretación de las curvas de la degradación acumulativa y se refiere a la cantidad de alimento que puede ser digerido por unidad de tiempo (Singh *et al.*, 1992; citado por Ocampo, 2012).

2.4.1 Factores que afectan la digestibilidad

Se pueden clasificar en dos tipos, los factores dietarios y los factores animales. Los primeros son aquellos que tienen directa relación con el

alimento, como la composición química del alimento, composición de la ración y el procesamiento de estos.

2.4.1.1 Factores asociados al alimento

En realidad los alimentos que más varían en digestibilidad son los forrajes, siendo el estado de madurez el principal causante de dicha variabilidad. En general, a medida que aumenta la madurez, de la planta disminuye su contenido de proteínas, y de azúcares solubles, y se eleva el contenido de fibra (principalmente celulosa y lignina), lo que causa una disminución gradual en la digestibilidad (Aponte, 2007). En el mismo sentido, el procesado de los alimentos (quebrado, partido, molido, cocido, etc.) influyen sobre la digestibilidad, porque impactan la velocidad de paso y accesibilidad enzimática a los diferentes tipos de nutrientes (Egaña, 2010).

2.4.1.2 Factores asociados al animal

Se incluye en este apartado a aquellos factores que se relacionan con el animal como es la especie y el nivel de alimentación. En este contexto, existen grandes variaciones en la digestibilidad de un mismo alimento entre las diferentes especies animales principalmente de la fibra. Esta diferencia se basa principalmente en distintas tasas de fermentación causados la mayoría de las veces por las diferencias anatómicas, hábitos alimenticios y nivel de alimentación de cada especie (Egaña, 2010).

La importancia del nivel de alimentación sobre la digestibilidad se basa en que aumento del nivel de ingestión causa una velocidad de tránsito intestinal y hay disminución del tiempo de acción enzimático, que puede disminuir levemente la digestibilidad (1 a 3%) (Egaña, 2010).

Dentro del proceso de digestibilidad, una parte de fundamental importancia es sin lugar a dudas lo que ocurre a nivel ruminal, es decir el proceso de fermentación y la degradación de los alimentos por parte de los microorganismos en el compartimiento fermentativo pre gástrico.

2.4.2 Fermentación ruminal

La fermentación en el rumen es el resultado de actividades físicas y microbiológicas que transforman los componentes de la dieta en productos que son útiles (Ácidos Grasos Volátiles, proteína microbiana, vitaminas del complejo B) e inútiles (CH_4 , CO_2) o incluso nocivos como (amoníaco, nitrato) para el animal. (Owens y Goetsch, 1986). Hablando técnicamente la fermentación es un tipo de catabolismo parcial, se caracteriza por ser un proceso de oxidación incompleta típico de los organismos anaeróbicos. En ésta, los electrones pasan del dador, un intermediario formado durante la degradación del substrato, hacia un aceptor constituido por algún otro intermediario orgánico también generado durante el catabolismo del substrato inicial (Varela y Grotiuz, 2006; citado por Guerrero 2012).

2.4.2.1 Características del rumen

El volumen ruminal en bovinos es de unos 48 L o 15-21% del peso corporal (Owens y Goetsch, 1988). Phillipson (1981) reporta contenidos ruminales de 30-60 kg en los bovinos, variando con la dieta y la tasa de pasaje a través del tubo digestivo.

2.4.2.1.1 Temperatura del rumen

La literatura especializada cita una temperatura entre 39 – 40 °C para las condiciones normales de fermentación ruminal (Church, 1974), pero otros autores (Yokoyama y Johnson, 1988) señalan rangos más amplios entre los 38 y 42 °C (Araujo y Vergara, 2007).

El efecto de la temperatura ambiental sobre la fermentación y el metabolismo fue evaluado por Kaiser y Weniger (1994), en corderos fistulados ruminalmente y alimentados con paja de avena o una dieta compuesta de concentrado/heno. Las muestras se conservaron a diferentes temperaturas incrementales hasta llegar a los 41°C. El pH ruminal descendió con el incremento de la temperatura, independientemente de la dieta, indicando una concentración incremental de ácidos grasos volátiles en el rumen favorecidos por los incrementos de temperatura, lo cual corrobora las afirmaciones de Church (1974). La digestibilidad total aumenta a altas temperaturas, porque el

tiempo de residencia de la partículas del rumen se prolonga al disminuir la motilidad ruminal debido al estrés calórico (Tajima *et al.*, 2007). Los animales más grandes son más sensibles a las altas temperaturas, y el efecto negativo de la altas temperatura se magnifica con altas humedades relativas (Tajima *et al.*, 2007; citado por Araujo y Vergara, 2007).

2.4.2.1.2 pH del rumen

Son varios los factores que intervienen para cambiar el pH en el rumen. La naturaleza de la dieta suministrada es factor determinante en las fluctuaciones del pH ruminal, aunque los rumiantes poseen un sistema altamente desarrollado para mantener el pH dentro de los límites fisiológicos – 5,5 a 7,0 (Krause y Oetzel, 2006). El pH ruminal depende la presión parcial del CO₂ (Araujo y Vergara, 2007).

El consumo de forrajes estimula elevadas secreciones de saliva, y los carbohidratos de los forrajes son lentamente digeribles, mientras que el consumo de granos, con carbohidratos rápidamente digeribles genera una importante concentración de ácidos orgánicos (Fischer *et al.*, 1994). El consumo excesivo de carbohidratos rápidamente fermentables resulta en un aumento de la concentración de ácido láctico y en una repentina baja de pH (Krause y Oetzel, 2006), pero la magnitud de la disminución del pH debido a un aumento en la tasa de fermentación ruminal dependerá de la capacidad búfer del rumen (Counotte *et al.*, 1979). La saliva secretada por el rumiante actúa como lubricante del alimento consumido, con un pH 8,2 en promedio, alto contenido de sodio, potasio, bicarbonato y fosfato, características que le permiten su acción búfer en el licor ruminal (Emery *et al.*, 1960; Krause y Oetzel, 2006).

En ensayos realizados por Elam y Davis (1962) se detectó incremento en el pH del fluido ruminal al agregar una solución de saliva artificial, fenómeno que fue atribuido a las sales búfer contenidas en dicha solución. Sin embargo, una disminución en el pH del rumen no aumenta la secreción de saliva, ésta es

estimulada por la comida y la rumia (Krause y Oetzel, 2006; citados por Araujo y Vergara 2007).

El pH del rumen varía considerablemente durante el día; Krause and Oetzel, 2006) e influye profundamente sobre la población microbiana (Yokoyama y Johnson, 1988). El pH del rumen baja progresivamente inmediatamente después del suministro del alimento y retorna a los niveles previos a la suplementación en 24 horas (Crater *et al.*, 2007).

Durante el ayuno prolongado se eleva el pH ruminal, se inhibe el crecimiento de la bacterias que convierten el lactato en ácidos grasos de cadena corta (AGCC), y deja el ecosistema ruminal más susceptible a la acidosis severa (Krause y Oetzel, 2006; citado por Araujo y Vergara, 2007)

2.4.2.1.3 Capacidad buffer

La acción búfer es la capacidad de una solución para resistir cambios en el pH (Giger-Reverdin *et al.*, 2002), y está definida como el número de moles por litro de H⁺ necesarios para causar un cambio en el pH. La del rumen está definida principalmente por el valor de pH, presión parcial de CO₂ y la concentración de sales de ácidos grasos de cadenas cortas (AGCC) (Counotte *et al.*, 1979). El sistema búfer del rumen es muy complejo, descansando sobre una abundante producción de saliva (una vaca puede producir hasta 150 L/día), la remoción de los AGCC a través de la absorción en la pared ruminal, el aprovechamiento del Carbono por parte de los microorganismos, las sales minerales que reaccionan con los ácidos orgánicos de los vegetales producen CO₂, la proteína del alimento y el nitrógeno no proteico que al ser degradado generan NH₃, neutralizan los ácidos en el proceso (Araujo y Vergara, 2007)

2.4.2.1.4 Potencial redox

El ambiente intraruminal es anaerobio por excelencia, lo que indica que se encuentra constantemente en condiciones de reducción. Sin embargo, es posible encontrar muy poco oxígeno en ocasiones, producto posiblemente, de su introducción a través del alimento ingerido o el agua (Church, 1974). Dicho

ambiente favorece la supervivencia de microorganismos anaerobios. La baja concentración de oxígeno en el rumen, según lo indica un potencial negativo de Oxidación (Eh) entre -250 y -450 milivoltios (mV), estimula el crecimiento de este tipo de microorganismos, que solamente pueden desarrollarse en ausencia de oxígeno o cuando su concentración es mínima (anaerobios obligados) (Yokoyama y Johnson, 1988).

2.4.2.1.5 Presión osmótica

La presión osmótica diferencial en el contenido ruminal es atribuida a la presencia de átomos ionizados o moléculas presentes en un soluto y se piensa que equivalen a la tensión gaseosa que producirían estos iones si se encontraran en forma gaseosa. La presión osmótica es cuantificada, por lo general, mediante la determinación del descenso del punto crioscópico (Church, 1974).

Los procesos fermentativos normales varían de acuerdo a circunstancias ambientales y dietéticas, éstas por lo general tienen lugar con una osmolaridad entre 260 y 340 miliosmoles (mOsM), normalmente alrededor de 280, pudiendo aumentar hasta 350 o 400 mOsM después de consumir alfalfa granulada o concentrados. El flujo de agua a través de la pared ruminal se realiza en pequeñas cantidades con una osmolaridad normal, mientras que con incrementos de esta presión osmótica se espera que entre agua al rumen (Warner y Stacy, 1972; Church, 1974, Owens y Goetsch, 1988).

En el trabajo de Fischer *et al.* (1994) fue cuantificada la presión osmótica u osmolaridad del contenido ruminal a través de la determinación del punto crioscópico, mediante la utilización de un osmómetro. En la figura 2.3 se presenta la osmolaridad del contenido ruminal para las dietas suministradas en este ensayo, se puede apreciar un incremento en la osmolaridad. El incremento en la concentración de ácidos orgánicos en el rumen quizá sea la razón del incremento de la presión osmótica. Esta situación corrobora la afirmación de Owens y Goetsch (1988), quienes afirman que por encima de 350 mOsM la digestión de la fibra y los almidones se ve inhibida a través de un efecto directo

sobre el metabolismo microbiano, del mismo modo que se altera la rumia, ya que al incrementarse la presión osmótica comienza a entrar agua desde la sangre (Araujo y Vergara, 2007). Como aparece en el cuadro 2.1 se observan efectos del pH sobre la capacidad búfer.

| Modificante | A | B |
|--------------------|-------|-------|
| NaOH | +2,30 | +2,50 |
| NH ₄ OH | +1,65 | +1,55 |
| Urea | +1,00 | +1,00 |
| HCl | -0,65 | -0,55 |
| HAc. | -0,60 | -0,80 |

Cuadro 2.1.- Efecto de diferentes modificantes del pH sobre la capacidad búfer del fluido ruminal.

+, -: incrementos positivos o negativos en unidades de pH. Datos tomados de (Bloomfield *et al.* 1966; citado por Araujo y Vergara, 2007).

2.4.2.1.6 Tasa de paso en el rumen.

La alimentación del rumiante está basada en materiales fibrosos como los forrajes y/o materiales de diferente naturaleza como los alimentos concentrados, entre otros. Además, el tiempo entre comidas, consumo de agua son variables del mismo modo que la secreción de saliva, la fermentación, la tasa de pasaje, siendo esta de gran importancia, el volumen y contenido ruminal (Church, 1974).

La retención dentro del rumen provee suficiente tiempo a los microorganismos para degradar eficientemente los alimentos ingeridos (Yokoyama y Johnson, 1988). Ørskov (1994) asegura que actualmente el tiempo de retención en el rumen se encuentra entre 48 y 60 horas. Al mismo tiempo el grado de distensión y llenado del retículo-rumen limitan el consumo voluntario de alimento, siendo estos factores a su vez determinados por la tasa de pasaje a través del rumen. Esta última hipótesis es soportada por resultados

obtenidos por Aitchison *et al.* (1986) quienes determinaron la tasa de pasaje y el consumo voluntario en ovejas alimentadas con dietas basadas en *Lolium perenne* cv. Y *Trifolium repens* cv. Blanca y Pronitro (tratamiento CL). Estos autores encontraron que la tasa de remoción del rumen de la fibra indigerible parecía variar durante el día con una máxima desaparición durante la comida seguida de una fase de retardo entre 5 y 10 horas después de ésta y un segundo incremento entre 10 y 24 horas después de la comida. Dichos resultados son más notables con henos de gramíneas, los cuales poseen mayor proporción de fracciones fibrosas, mientras que en el caso de leguminosas parecen estar envueltos otros factores. El tiempo de retención de los forrajes en el rumen es muy importante para caracterizar el valor alimentario, especialmente la degradabilidad. Esta información es esencial para optimizar el nitrógeno y la energía disponible para la síntesis de proteína microbial en el rumen (Bulang *et al.*, 2007).

Según Owens y Goetsch (1988), la tasa de paso por el rumen se puede calcular de la siguiente manera. El flujo o salida del rumen hacia el omaso dividido por el volumen del rumen proporciona la tasa fraccional de paso (K_p). Para los líquidos suele denominarse *tasa de dilución*. Con un flujo de salida de 4 litros/hora y un volumen del rumen de 50 litros, el valor de K_p es de 0,08/h o, como suele indicarse, 8 % h el contenido del rumen no fluye todo junto. Determinadas porciones que no son suficientemente densas o cuyas partículas no alcanzan un tamaño suficientemente densas o cuyas partículas no alcanzan un tamaño suficientemente pequeño son retenidas de forma preferencial por el rumen. El tiempo de digestión en el rumen se prolonga para dichas porciones. El valor de K_p de los líquidos supera siempre el valor K_p para partículas de concentrados o de forrajes. Si la sustancia seca del contenido del rumen fuese el 12 % y el flujo de salida del 4 % de sustancia seca para el animal anterior, el valor de K_p para la sustancia seca sería 2,7 %/h (4 litros/h a 4 % de sustancia seca / 50 litros a 12 % de sustancia seca).

2.4.2.2 Ecología ruminal

La flora microbiana consiste de bacterias, protozoos y hongos que pueden clasificarse de diferentes formas. El 25 % de las bacterias se encuentran en la fase líquida del rumen, el 70% adherida a las partículas en suspensión y un 5% adherida a los protozoos o a la pared ruminal. A los efectos de que la concentración bacteriana se mantenga es necesario que su tiempo de generación sea menor al "giro" de la ingesta. Dado que la tasa de pasaje de las partículas es menor al del líquido ruminal, las bacterias de menor crecimiento suelen adherirse a éstas (Kamande y Mills, 2006). De todos los microorganismo presentes en el rumen sin lugar a duda las bacterias son los microorganismos más abundantes en el complejo retículo-rumen. Existen alrededor de 10 billones de células bacterianas por gramo de contenido ruminal y alrededor de 200 especies que son responsables de la mayor degradación de las nutrientes de los alimentos (Rodríguez *et al.*, 2008; citado por Guerrero, 2012). La clasificación de las bacterias depende de su afinidad a ciertos sustratos, en el cuadro 2.2 muestra la clasificación de las bacterias según su afinidad.

Cuadro 2.2.- Clasificación funcional de las bacterias ruminales (Relling y Mattioli, 2003; citado por Guerrero, 2012).

| Grupo de bacterias | Característica funcional | Principales productos finales de su metabolismo |
|--------------------|---|---|
| Celulolíticas | Fermentan hidratos de carbono estructurales de la pared celular (celulosa, hemicelulosa y pectinas) | AGV's (especialmente acetato) |
| Amilolíticas | Fermentan hidratos de carbono de reserva de granos (almidón) | AGV's (especialmente propionato) |
| Sacarolíticas | Fermentan hidratos de carbono simples (azúcares vegetales) | AGV's (especialmente butirato) |
| Lactolíticas | Metabolizan el lactato | AGV's (especialmente propionato) |
| Lipolíticas | Metabolizan las grasas | Ácidos grasos libres y AGV's (especialmente propionato) |
| Proteolíticas | Degradan las proteínas | AGV's y amoníaco (NH ₃) |

| | | |
|-------------|--------------------|-----------------------------------|
| Metanógenas | Producen metano | Metano (CH ₄) |
| Ureolíticas | Hidrolizan la urea | CO ₂ y NH ₃ |

Además las bacterias son responsables de hidrolizar o degradar las macromoléculas que componen los sustratos presentes en los alimentos, como celulosa, hemicelulosa, almidón, grasas y aceites, y pectina. El producto final de la fermentación de los carbohidratos lo son mayormente ácidos grasos volátiles (AGV's, por ejemplo acético, propiónico y butírico) los cuales representan la principal fuente de energía para el rumiante. Después de su producción en el rumen los AGV'S son absorbidos a través de la pared ruminal y transportados al hígado, órgano donde se metabolizan o son distribuidos a los diferentes tejidos del cuerpo (por ejemplo tejido adiposo, tejido muscular, glándula mamaria) (Rodríguez y Valencia, 2008).

De la degradación de proteínas y otros compuestos nitrogenados las bacterias ruminales producen amoníaco que es utilizado por los mismos microorganismos para producir proteína microbiana. Dentro de la variedad de bacterias presentes en el rumen podemos encontrar morfológicamente de tres tipos, como se muestra en la figura 2.4 (Rodríguez y Valencia, 2008)



A) cocos

B) bacilos

C) espirilos

Figura 2.3.- muestra como se clasifican morfológicamente las bacterias en el rumen (Rodríguez y Valencia, 2008)

Como parte de la microflora ruminal están los protozoarios, microorganismos simples, microscópicos (15 a 250 µm de largo y 10 a 200 µm de ancho), predominantemente unicelulares y con núcleo diferenciado. En el complejo retículo-rumen se pueden encontrar hasta un millón de protozoarios

suspendidos por mililitro de líquido ruminal, lo cual puede representar hasta un 50 % de la biomasa ruminal. Los protozoarios participan en el proceso de fermentación en el complejo retículo-rumen utilizando mayormente sus cilios como medio de locomoción y el mecanismo de adhesión para la degradación de sustratos. La clasificación de los protozoarios ruminales también se basa en su morfología y su afinidad al sustrato que degradan (por ejemplo localización de cilios, celulolíticos, amilolíticos, proteolíticos), como lo muestra el cuadro 2.3 (Rodríguez y Valencia, 2008)

Cuadro 2.3.- Clasificación de protozoarios según su afinidad de sustrato según (Rodríguez y Valencia, 2008)

| Celulolíticos | Amilolíticos | Proteolíticos |
|----------------------|---------------------|----------------------|
| <i>Polyplastron</i> | <i>Entodinium</i> | <i>Entodiniumn</i> |
| <i>Eudiplodinium</i> | | <i>Eudiplodinium</i> |
| <i>Epidinium</i> | | |

Estos organismos participan activamente en la degradación de celulosa y sus derivados, así como la digestión del almidón; utilizan la proteína suspendida en el líquido ruminal para producir amoníaco, que las bacterias degradadoras de celulosa utilizan como fuentes de nitrógeno para su crecimiento (Rodríguez y Valencia, 2008).

Dentro de la ecología ruminal también están presentes los hongos microscópicos. Se clasifican dentro del *Filum Chytridomycota* del reino Fungae. Los hongos fueron el último tipo de microorganismo ruminal en ser descubierto por lo que su modo de acción para hidrolizar las partículas de alimento no está bien documentado. Los hongos ruminales constituyen alrededor del 8% de la biomasa microbiana y se estima que la población de zoosporas tiene una densidad de 10, 000-1,000,000 de células por mililitro (Rodríguez y Valencia, 2008). Se han clasificado en seis géneros como se muestra en el siguiente cuadro.

Una de las importancias que tienen los hongos dentro de la microbiología ruminal es que son responsables de la mayor parte de la

degradación de los alimentos, los hongos la digestión de los alimentos fibrosos durante las primeras 5 horas después de consumidos. Los hongos del rumen producen un complejo enzimático capaz de degradar la fibra al igual o mejor que las principales bacterias celulolíticas, incluso siendo capaz de disolver parte de la lignina. Según los científicos, la función principal de los hongos es debilitar las estructuras de algunos tejidos de la planta incrementando la superficie disponible para la digestión bacteriana, mejorando así la efectividad de la rumia y degradabilidad de la fibra (Rodríguez y Valencia, 2008).

Además de las bacterias, protozoarios y hongos, dentro de la microbiología del complejo retículo-rumen se han identificado y aislado viruces. Los viruces están presentes en cantidades no determinadas y no contribuyen al proceso fermentativo o la degradación de sustratos, ni tienen actividad respiratoria. Sin embargo, se les asocia con el rompimiento de otros microorganismos por lo que se les conoce como bacteriófagos (Rodríguez y Valencia, 2008).

Todos estos microorganismos presentes en el rumen tienen gran importancia de una u otra forma en la degradación ruminal de los alimentos en el rumen.

2.4.3 Degradación ruminal de componentes del alimento

2.4.3.1 Degradación de carbohidratos

Los carbohidratos son la fuente más importante de energía. Los microorganismos en el rumen permiten al rumiante obtener energía de los carbohidratos fibrosos (celulosa y hemicelulosa) que son ligados a la lignina en las paredes de las células vegetales. La fibra es voluminosa y se retiene en el rumen donde la celulosa y la hemicelulosa fermentan lentamente. Mientras que madura la planta, el contenido de lignina de la fibra incrementa y el grado de fermentación de celulosa y hemicelulosa en el rumen se reduce. La presencia de fibra en partículas largas es necesaria para estimular la rumia. La rumia aumenta la separación y fermentación de fibra, estimula las contracciones del rumen y aumenta el flujo de saliva hacia el rumen. Los carbohidratos no-

fibrosos (almidones y azúcares) fermentan rápidamente y completamente en el rumen. Estos incrementan la densidad de energía en la dieta, mejorando el suministro de energía y determinando la cantidad de proteína bacteriana producida en el rumen (figura 2.5). Sin embargo, los carbohidratos no-fibrosos no estimulan la rumia o la producción de saliva y cuando se encuentran en exceso pueden inhibir la fermentación de fibra (Wattiaux, 2005).

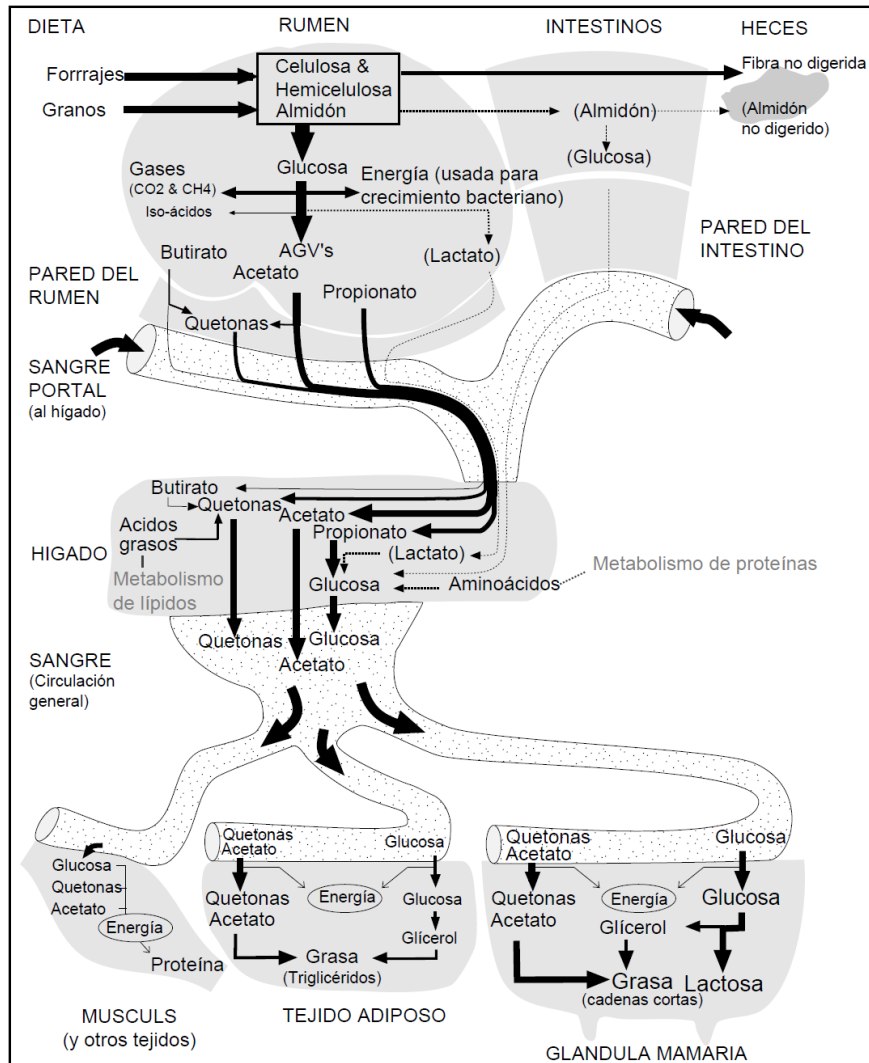


Figura 2.4.- Esquema que muestra el metabolismo de los carbohidratos en el rumiante (Wattiaux, 2005).

Técnicamente lo que ocurre con la degradación de los carbohidratos en el rumen es lo siguiente; la celulosa, la hemicelulosa y las pectinas son degradadas mediante enzimas *celulasas*, *hemicelulasas* y *pectinasas* aportadas por las bacterias que rompen los enlaces β 1-4, mientras que las

ligninas no son digeridas por las enzimas bacterianas ni las del rumiante y son eliminadas sin ser digeridas en las heces. Su importancia se debe no solo a que no es digestible sino que además protege a otros carbohidratos de los procesos digestivos. El material vegetal es atacado por las enzimas presentes en la superficie de las bacterias, para liberar monosacáridos y oligosacáridos, que son utilizados de nuevo por las bacterias, primeramente para la formación de piruvato por la misma vía metabólica de *Embden-Meyerhof* que las células de los mamíferos. El piruvato en condiciones de aerobiosis entra en el ciclo de Krebs y por un proceso de fosforilación oxidativa se obtiene energía en forma de ATP, CO₂ y H₂O. En condiciones de anaerobiosis como las que se tienen en el medio ruminal, a partir de piruvato se obtienen AGV (acético, butírico y propiónico), gases (metano y CO₂) y H₂O, por diferentes vías metabólicas como se muestra en la figura 2.6 (Swenson y Reece, 1999).

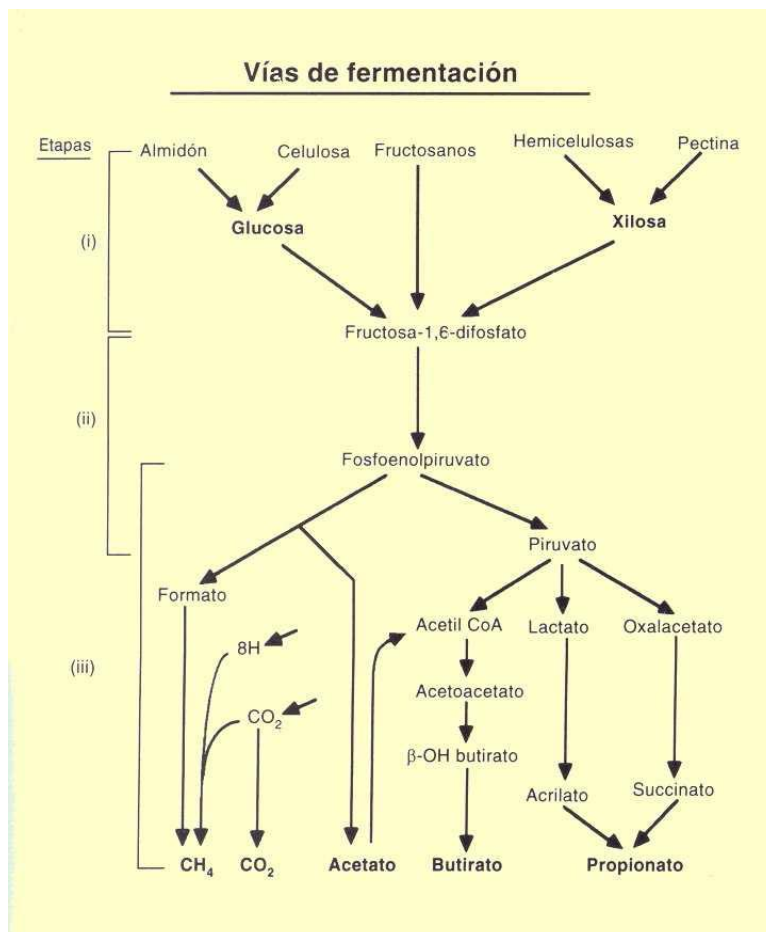


Figura 2.5.- Diferentes vías de fermentación de los glúcidos (Swenson y Reece, 1999).

La producción de los diferentes ácidos grasos depende de las bacterias que intervienen en el proceso y del tipo de alimento. Así, con dietas ricas en almidón aumenta la cantidad de todos los AGV's. Sin embargo, con dietas ricas en fibra la proporción de Ácido Acético es mayor que con dietas ricas en almidón. En cuanto a los tipos bacterianos, distinguimos las *bacterias primarias* que degradan el alimento, fundamentalmente son celulolíticas y amilolíticas, mientras que las bacterias secundarias son las que utilizan los productos de degradación de las primeras, como los lactobacilos (productoras de lactato a partir de propiónico) y las metanógenas (Swenson y Reece, 1999).

Las bacterias celulolíticas son las que degradan los enlaces β 1-4 de la celulosa. Presentan un índice metabólico lento, con un tiempo de duplicación de unas 18 horas. Pueden sintetizar proteínas a partir de NH_3 y de algunos ácidos grasos específicos. Se desarrollan a un pH óptimo ligeramente ácido 6.2 a 6.8, normal en el rumen de un animal que se alimenta con forrajes. Estas bacterias están asociadas con bacterias secundarias metanogénicas, que producen metano (CH_4) derivado del ácido fórmico, CO_2 y protones. Las bacterias celulolíticas producen fundamentalmente Ácido Acético (70:15:10 acético: propiónico: butírico) (Swenson y Reece, 1999).

Las bacterias amilolíticas degradan los enlaces α 1-4 del almidón. Tienen un índice metabólico rápido, con un tiempo de duplicación mucho más reducido (15 min - 4 horas) que las celulolíticas. Sintetizan proteínas a partir de aminoácidos y NH_3 . Se desarrollan a un pH óptimo de 5.5 - 6.6 y están asociadas a bacterias secundarias productoras de metano, y productoras de Ácido Propiónico. La producción principal de las bacterias amilolíticas es de Ácido acético. Tienen una producción de Ácido en proporción de (55:25:10 acético: propiónico: butírico) respectivamente (Swenson y Reece, 1999).

Las bacterias metanógenas favorecen la formación de Ácido Acético, mientras que cuando las condiciones no favorecen su desarrollo se promueve la formación de Ácido Propiónico. Esto ocurre cuando el animal come mucho alimento, y está muy molido o en forma de *pellets*, o bien cuando la proporción de grano (rico en almidón) es alta en la dieta (Swenson y Reece, 1999).

Los AGV serán los productos de degradación del metabolismo microbiano que son absorbidos por la pared del rumen (Swenson y Reece, 1999).

2.4.3.2 Degradación ruminal de la proteína

La degradación de las proteínas en el rumen depende de la conjugación de tres procesos catabólicos: la proteólisis, la péptidolisis 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 (Ruiz y Ayala 1987).

La acción sinérgica de diferentes tipos de proteasas produce péptidos y aminoácidos (Wallace *et al.* 1997). La velocidad y extensión de la degradación de las proteínas depende de la actividad proteolítica de la microbiota ruminal, del tipo de proteína de la dieta (Bach *et al.* 2005), así como de la velocidad de recambio ruminal y de la presencia de inhibidores enzimáticos (Ruiz y Ayala 1987) o de factores antinutricionales (McSweeney *et al.* 2001 y Min *et al.* 2003).

Los protozoos desempeñan un papel importante en la degradación de las proteínas porque tienen la capacidad de atrapar grandes partículas de alimento y bacterias ruminales (van Soest 1994). 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 atrapadas y a que no pueden utilizar el N amoniacal (Dijkstra 1994).

Los péptidos y aminoácidos producidos y los contenidos en esas formas en el alimento se transportan hacia el interior de las células microbianas. Los péptidos pueden continuar degradándose a aminoácidos por la acción de las enzimas peptidasas y liberar los aminoácidos que los componen. Por último,

los aminoácidos pueden ser desaminados y producir ácidos grasos volátiles, CO₂ y amoníaco. También pueden ser reutilizados durante la síntesis de proteína microbiana (Nolan y Dobos 2005). El destino de los aminoácidos y péptidos absorbidos depende de la disponibilidad de energía en el rumen. Si hay suficiente energía disponible, los microorganismos la utilizarán para la síntesis proteica. De lo contrario, la prioridad estará en las rutas catabólicas que produzcan ATP para cubrir las necesidades energéticas del resto de las funciones metabólicas del microorganismo (Orskov 1992).

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 (Bach *et al.* 2005; citado por Rodríguez y Areadne, 2007).

2.4.3.3 Degradación de los lípidos

En el rumen los microorganismos modifican rápida y ampliamente a los lípidos de la dieta y en condiciones normales muy poca grasa escapa sin alteración del rumen. Los microorganismos, producen la hidrólisis de los triglicéridos procedentes de la dieta en glicerol y ácidos grasos. El glicerol, por fermentación microbiana, da lugar principalmente a la formación de ácido propiónico, como se muestra en la figura 2.9. Los ácidos grasos de tipo insaturado, debido al ambiente fuertemente reductor del retículo-rumen, se hidrogenan y dan lugar a ácidos grasos saturados, que serán absorbidos. Por ello, aunque las grasas de la dieta contengan sustancias de tipo insaturadas, tanto la grasa corporal como la grasa de la leche en los rumiantes serán ricas en ácidos grasos saturados. (Van Lier y Regueiro, 2008)

En el rumen la mayoría de los lípidos (más del 95%) son hidrolizados por los microorganismos (hidrolasas bacterianas). El 70% de los triacilglicéridos se hidrolizan en la hora siguiente a su ingestión, separándose los enlaces entre el glicerol y los ácidos grasos y obteniéndose así glicerol y 3 ácidos grasos libres. De la hidrólisis de los galactolípidos se obtiene glicerol, 2 ácidos grasos libres y

galactosa y de la hidrólisis de los fosfolípidos se obtiene glicerol, 2 ácidos grasos libres y un alcohol aminado. El glicerol se fermenta rápidamente dando ácidos grasos volátiles (propiónico); la galactosa es transformada en ácido acético y butírico y los alcoholes aminados son metabolizados hasta amoníaco y AGV. A excepción de los ácidos grasos de cadena media y larga, los demás productos terminales son absorbidos por la propia pared ruminal. Los ácidos grasos pueden ser utilizados por las propias bacterias del rumen para formar fosfolípidos, necesarios para construir sus membranas celulares (Van Lier y Regueiro, 2008).

No todas las bacterias son capaces de realizar lipólisis, y los protozoarios pueden no presentar actividad lipolítica. La fracción de microorganismos lipolíticos y que realizan la biohidrogenación es menor con dietas ricas en cereales, permitiendo un mayor escape de lípidos intactos del rumen (Van Lier y Regueiro, 2008).

La biohidrogenación tiene lugar en el rumen y los microorganismos son los responsables de las mismas. Este proceso es el resultado de la adición de hidrógeno (H) a los ácidos grasos con dobles enlaces. Aunque la mayoría de los ácidos grasos insaturados son modificados mediante el metabolismo ruminal, la saturación no suele ser completa normalmente y pueden aparecer diversos ácidos grasos como resultado de esta hidrogenación incompleta (Carro *et al.*, 1997; citado por Guerrero, 2012). Casi todos los ácidos grasos vegetales insaturados presentan la configuración *CIS* entre los átomos de carbono y como consecuencia, la grasa depositada en los rumiantes refleja la de la dieta y la mayoría de sus ácidos grasos presentan la forma *CIS* (figura 2.5). Aunque los microorganismos producen una variedad de isómeros *TRANS* de los ácidos grasos así como también alteraciones en la longitud de la cadena, en la posición de los dobles enlaces, y producción de ácidos grasos de cadena impar y de cadena ramificada, todos los cuales sirven para que la grasa que llega a intestino delgado de los rumiantes difiera notablemente de la grasa de la dieta (figura 2.7) (Church, 1993; citado por Guerrero, 2012).

Cuadro 2.4.- Biohidrogenación de ácidos grasos insaturados en el rumen (dietas conteniendo diferentes fuentes de lípidos) (Scollan *et al.*, 2001; citado por Guerrero, 2012).

| Biohidrogenación % | Linaza | Aceite de pescado | Linaza + Aceite |
|--------------------|--------|-------------------|-----------------|
| C18:1 n-9 | 74.7 | 67.2 | 65.0 |
| C18:2 n-6 | 91.0 | 91.9 | 89.8 |
| C18:3 n-3 | 94.8 | 90.9 | 93.7 |
| Total C18 | 90.2 | 85.4 | 87.1 |
| C20:5 n-3 | --- | 92.4 | 89.8 |
| C22:6 n-3 | --- | 90.9 | 86.6 |

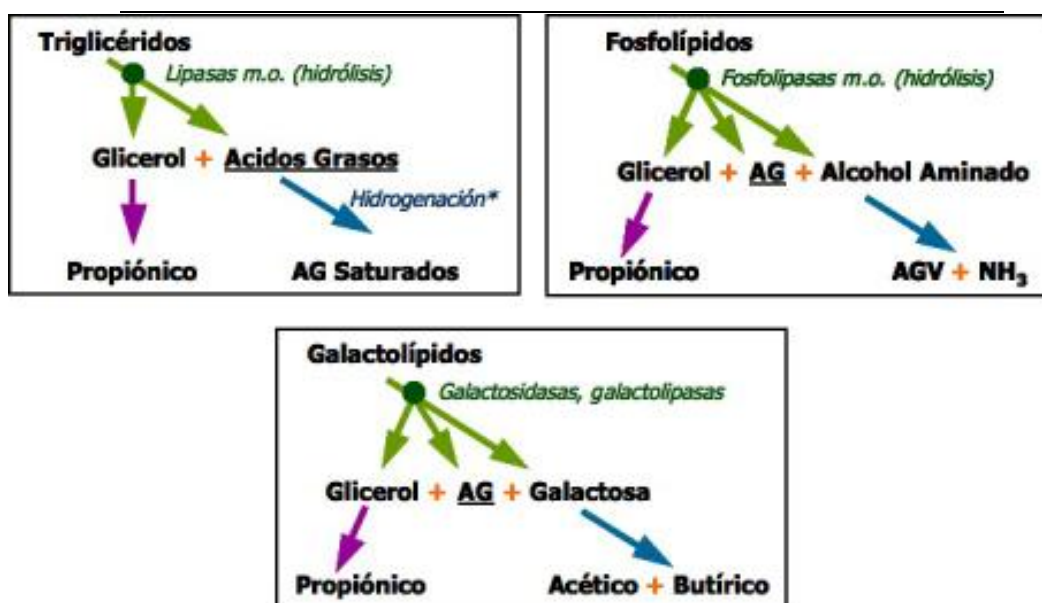


Figura 2.6.- Metabolismo de los lípidos en el rumen: los distintos sustratos y sus productos finales (Van Lier y Regueiro, 2008).

2.4.3.4 Degradación de compuestos nitrogenados

Existe una gran variedad de compuestos nitrogenados disponibles para los microorganismos presentes en el rumen (Grudsky y Arias ,1983). Dichos compuestos incluyen: proteínas de diversa naturaleza, las que varían en solubilidad y contenido aminoacídico, nucleoproteínas que contienen gran variedad de bases púricas y pirimídicas, varios compuestos nitrogenados no proteicos como péptidos, aminoácidos, amoníaco, amidas, aminas, aminas volátiles, sales de amonio, nitritos y nitratos, así como también compuestos como la urea y Biuret (Grudsky y Arias ,1983).

Al igual que la fermentación de los carbohidratos la hidrólisis de la proteína en el rumen implica un proceso complejo de varias etapas. (Owens y Zinn, 1988; citado por Guerrero, 2012). Este proceso de degradación se divide en 3 fases: proteolisis, peptidólisis y metabolismo de aminoácidos (Rotger, 2004).

Las bacterias son las principales responsables de la degradación de la fracción soluble de la proteína y probablemente de la proteína en general. Su principal actividad proteolítica es del tipo cisteína proteasa, tanto en dietas forrajeras como concentradas (McAllister *et al.*, 1993; Wallace, 1991; Wang *et al.*, 2001; Greathead, 2003; citado por Guerrero, 2012). Parece ser que la actividad proteolítica está influenciada principalmente por el pH, siendo los valores óptimos entre 6 y 7 (Grudsky y Arias ,1983).

La acción conjunta de diversas bacterias de baja actividad hacen posible una eficiente proteólisis en el rumen (Wallace, 1991). De esta misma manera podemos encontrar una diversidad de bacterias que pueden ser desde una baja hasta una alta actividad proteolítica. En especial, las especies proteolíticas más importantes ante diferentes condiciones de alimentación, son *Ruminobacter amilophylus*, *Prevotella ruminicola*, *Butyrivibrio fibrisolvens*, y *Streptococcus bovis* (Yokohama y Johnson, 1988). Sin embargo Rusell *et al.*, (1988) aislaron un grupo de bacterias muchos menos numerosas pero con gran actividad productora de amoníaco. Estas bacterias pertenecientes a los géneros *Clostridium* y *Peptostreptococcus* y conocidas como bacterias hiperproductoras de amoníaco, no fermentan carbohidratos, sino que utilizan los aminoácidos como la principal fuente de energía y nitrógeno.

La bacteria *Ruminobacter amylophilus* además de tener actividad proteasa también tiene actividad amilolítica, por lo que es de particular importancia en dietas ricas en almidón. Su función proteolítica se basa en degradar las proteínas estructurales dentro del grano de cereal, para exponer el almidón para su degradación, sin ser capaz de utilizar los péptidos y aminoácidos formados (Cotta y Hespell, 1986). Probablemente la bacteria proteolítica más abundante en todo tipo de dietas sea *Prevotella ruminicola*, que tiene varias actividades proteolíticas y, aunque puede incorporar péptidos de un determinado tamaño directamente a su síntesis proteica, es incapaz de utilizar aminoácidos libres (Cotta y Hespell, 1986).

La mayoría de proteasas bacterianas están asociadas a la pared bacteriana (Kopečný y Wallace, 1982), de manera que el primer paso para la degradación de la proteína es la adhesión de las bacterias a las partículas de alimento (Brock *et al.*, 1982; Wallace, 1985). En la figura 2.8 se muestra esta degradación anaeróbica que tiene lugar en el rumen. Consiste inicialmente en una hidrólisis de los enlaces peptídicos mediante proteasas y peptidasas (Van Straalen y Tamminga, 1990), de la que se obtiene oligopéptidos que posteriormente se degradan a péptidos de menor tamaño y a algunos aminoácidos libres que serán transportados al interior de la célula (NRC, 2001). Estos pueden ser utilizados directamente por los microorganismos ruminales o ser diseminados para producir amoníaco y cadenas carbonatadas (Bach *et al.*, 2005). A su vez las cadenas carbonatadas pueden ser utilizadas junto con el amoníaco para sintetizar nuevos aminoácidos que serán incorporados a la proteína microbiana, o bien ser descarboxiladas dando lugar a ácidos grasos volátiles y dióxido de carbono. La diseminación de los aminoácidos ramificados proporciona AG de cadena ramificada, necesarios para el desarrollo de algunos microorganismos ruminales, especialmente para las bacterias celulolíticas (Hobson, 1988). En los últimos años, se han demostrado un especial interés en el estudio de las bacterias responsables de la diseminación, ya que al ser productoras de amoníaco juegan un papel muy importante en la eficiencia de la retención de nitrógeno por parte del animal (figura 2.8)

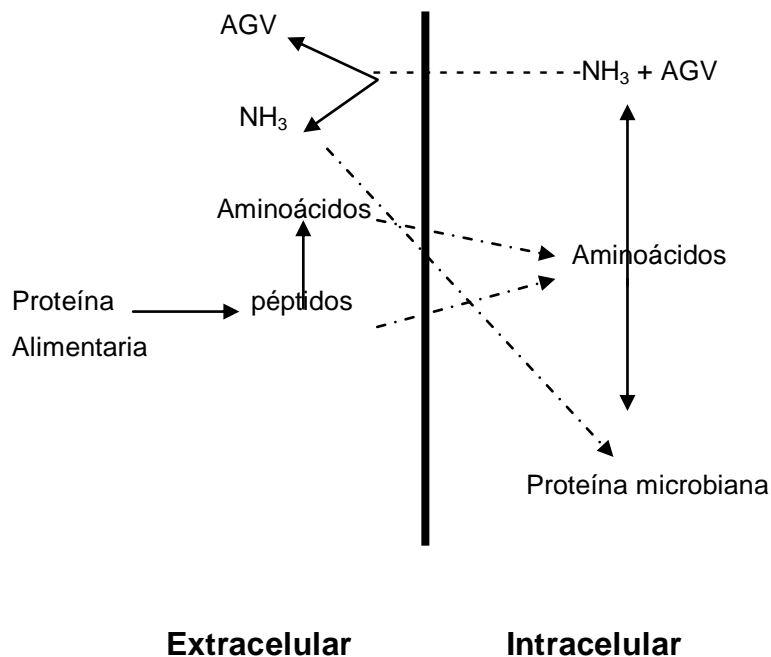


Figura 2.7.- esquema de la degradación de la proteína en el rumen (Adaptado por Russell *et al.*, 1991).

A diferencia de las bacterias, los protozoos son capaces de ingerir pequeñas partículas (bacterias, hongos y pequeñas partículas de alimento), y la proteólisis tiene lugar en el interior de la célula (Tamminga, 1979; NRC, 2001). La mayor actividad proteolítica la ejercen sobre las bacterias ruminales y son los principales responsables del reciclaje de proteína microbiana en animales defaunados (Wallace y McPherson, 1987).

La participación de los hongos anaerobios en la degradación de la proteína en el rumen consiste principalmente en colonizar y degradar los tejidos lignificados de las plantas, favoreciendo así el acceso de las enzimas bacteriana (Fonty y Joblin, 1991). Sin embargo estudios *in vitro* (Wallace y

Joblin, 1985; Wallace y Munro, 1986) muestran una actividad proteasa elevada en algunas cepas como el *Neocallimastix frontalis*.

2.4.4 Técnicas para evaluar la digestibilidad

El conocimiento de la degradabilidad, la digestibilidad de los alimentos son fundamentales para establecer su valor nutritivo y por tanto, para la formulación de raciones para rumiantes. Aunque las determinaciones de la digestibilidad *in vivo* total, incluyendo la degradabilidad *in situ* o *in vivo* parcial, o de la bolsa de nylon son consideradas las más exactas, este es un proceso laborioso y costoso que requiere el empleo de altas cantidades de alimento, uso de alta mano de obra y la disposición de instalaciones para su cuidado, por lo tanto se han propuesto distintos métodos alternativos, entre ellos los procedimientos *in vitro* para la estimación de la digestibilidad, los que pueden realizarse cuando se dispone de pequeñas cantidades de muestra. (Giraldo, *et al*, 2007).

2.4.4.1 Digestibilidad *in vitro*

Los métodos de digestibilidad “*in vitro*” simulan los procesos digestivos de los rumiantes. El método en dos etapas, basado en el uso de líquido ruminal y seguido por un tratamiento con pepsina, para completar la degradación de los componentes proteicos del alimento y de las bacterias adheridas al mismo, es el que está más difundido. Este método propuesto por Tilley y Terry (1963) es confiable, exacto y preciso para la predicción de la digestibilidad “*in vivo*” de una amplia variedad de forrajes (Velasco, 1996; citado por Guerrero, 2011).

El inconveniente de este método es la necesidad y el costo de mantener animales donantes fistulados y a que puede existir gran variabilidad entre distintas tandas de licor ruminal (especie donante, dieta suministrada, cambios en el manejo de la alimentación, momento en que se recolecta el licor ruminal) (Palma y Díaz, 2001).

2.4.4.1.1 Digestor DAISY

La incubadora DAISY de ANKOM es un método que puede digerir varias muestras de forraje en bolsas dentro de los frascos de cristal, los cuales se rotan en un compartimiento aislado. Cuando se reduce la cantidad de muestra, manteniendo constante el volumen de inóculo, se incrementa la estimación de la digestibilidad y la variabilidad se duplica. Es por esta razón que cuando se necesita analizar un gran número de muestras se puede reducir el peso de la muestra en función de economizar en reactivos (González *et al.*, 1990; Ocampo, 2012).

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

Diversos autores han demostrado que la técnica da predicciones relativamente exactas de la digestibilidad verdadera *in vitro* (Julier *et al.*, 1999; Vogel *et al.*, 1999; Wilman y Adesogan, 2000). Además se utiliza para estimar los índices de la degradación de alimentos. Sin embargo los resultados de la digestibilidad que se obtienen pueden ser afectados por el tamaño de muestra y método de proceso, la proximidad de los frascos incubadores a alguna fuente de calor y al grado al cual las bolsas se sumergen en el contenido ruminal. (Adesogan A.T. Inédito).

2.4.4.2 Digestibilidad *in situ*

Otra técnica que se utiliza para estimar la digestibilidad es la técnica de la bolsa de nylon mediante la utilización de un animal fistulado ruminalmente, es conocida por su utilidad práctica para estimar la degradabilidad ruminal de

materia seca y proteína de diferentes ingredientes (Orzkov et, al., 1980, Cote et al., 1983).

Quin et al., (1938), Iniciaron el ejemplo de la técnica *in situ*, también llamada técnica *in sacco* o técnica de la bolsa artificial para estudiar la digestibilidad o desaparición de los alimentos en el rumen. Desde entonces, este método ganó gran aceptación como una forma de medir la digestibilidad aparente de la materia seca, fibra, nitrógeno, etcétera, predecir la digestibilidad de los nutrimentos en el tracto digestivo, y la digestibilidad de varios sistemas de alimentación debido principalmente a que es una manera rápida de medir la proporción en que los constituyentes del alimento son susceptibles a la degradación ruminal (Merchen, 2000; Guerrero,2011).

En este procedimiento, el alimento no ha sido previamente masticado o sometido al proceso de rumia. Por tanto, debe molerse antes de someterlo a la incubación en el rumen (Mertens y Loften, 2000). En esta técnica se coloca el alimento en estudio en una bolsa de nylon (u otro material indigerible) la cual se coloca en el rumen de un animal fistulado ruminalmente. Se retiran las bolsas de cierto tiempo de incubación y se determina la cantidad de material que se perdió en las bolsas (por la fermentación) (Church y Pond, 2002). Para esta técnica existen diversos factores que pueden alterar o influir en la determinación de la digestibilidad, como los son el tamaño de poro de la bolsa utilizada, cantidad de muestra, tamaño de la bolsa y tamaño de partícula de la muestra, entre otros.

2.4.4.3 Factores que afectan la digestibilidad a nivel experimental.

2.4.4.2.1 Tamaño de los poros de la bolsa.

La finalidad de los poros de la bolsa es limitar la entrada del contenido ruminal no asociado con la dieta a evaluar, pero si permitir la entrada de la población microbial para que degrade los ingredientes, al mismo tiempo evitar o disminuir la salida de partículas de alimento no degradable (Nocek, 1988), Belasco et al.(1958: citados por Mehrez y Orzkov, 1977) y Van Keuren y Heineman (1962) enfatizaron la importancia del tamaño del poro del material

para las bolsas en la regulación del pasaje de partículas sólidas, estos aspectos fueron estudiados por Rodríguez (1968), quien reportó que materiales de 1680, 2303 y 2550 poros / cm² dan valores similares para desaparición de materia seca de las bolsas. Llamas y Tejada (1990) mencionan que materiales con 1600 poros / cm² son adecuados. Se ha encontrado que materiales con poros de 20 milimicras y 35 milimicras dan pérdidas más pequeñas de materia seca que aquellos materiales con poros de 53 milimicras (Uden *et al*, 1974); estos mismos autores (1974) notaron un flujo del contenido del rumen hacia las bolsas con un tamaño de poro de 35 milimicras. Kempton (1980) no encontró efecto significativo de la porosidad del material de la bolsa de nylon sobre la tasa de desaparición de la materia seca a las 72 horas. Van Soest (1983) sugiere que el tamaño óptimo de los poros está alrededor de 30 milimicras, ya que poros más pequeños retardan la entrada de microorganismos que inhiben una óptima fermentación, mientras que poros más grandes permiten la entrada de pequeñas partículas lignificadas que distorsionan los resultados.

2.4.4.2.2 Tamaño de la partícula

Generalmente partículas más grandes y enteras se asocian con una digestión más lenta, presentando los resultados y mayor variación; las partículas más finas están sujetas a mayores pérdidas al incubarlas en las bolsas, lo que da por resultado tasas de digestión inapropiadas que, en ocasiones, pueden no ser reales. Sin embargo, la variación en los resultados es menor.

Weakley *et al* (1983). Informan que la degradación de materia seca en pasta de soya fue menor al incubarla quebrada (2000 micrómetros) que molida. Ehle *et al*, (1984), encontraron que los niveles de digestión de nitrógeno en varios alimentos fueron similares para las muestras con diferentes tamaños (1180, 600, 300 y 150 micrómetros) al incubar 20 g de muestra en bolsas con tamaño de poro de 70 micrómetros. En otro trabajo," se observó que la pulverización (50 a 150 micrómetros) de pasta de soya o granos de destilería aumentó la desaparición de materia seca y de nitrógeno. Al moler el alimento (5 mm) aumenta la desaparición de nitrógeno y materia seca, en comparación con el alimento tal como lo consume el animal también el molido puede hacer variar

el grado en que el nitrógeno y la materia seca son digeridos, ya que aumenta el área de superficie por unidad de peso de la muestra, haciéndola más accesible al ataque microbiano; además, partículas más pequeñas y uniformes dan por resultado una muestra menos variable y más uniforme. En trabajos realizados por Van Keuren y Heinemann, (1962) no encontraron diferencias en la desaparición de materia seca en forrajes molidos con tamaños de 0.28, 0.42 y 0.84 mm, pero al disminuir el tamaño de partícula a menos de 0.6 mm hubo formación de grumos en la muestra, lo que disminuyó su digestibilidad. Solaiman *et al.*, (1982) observaron mayor digestibilidad de las paredes celulares de la alfalfa (*Medicago sativa*) y del pasto orchardgrass (*Dactylis donzocruta*), al moler estos forrajes a un tamaño de 1 mm, que en partículas de 8 mm.

2.4.4.2.3 Tamaño de la bolsa y cantidad del alimento

Las dimensiones de la bolsa y la cantidad de muestra son factores importantes que pueden afectar la digestibilidad *in situ* del alimento. Playne *et al.*, (1978), estudiaron el efecto del tamaño de la bolsa sobre la digestibilidad *in situ* del alimento, manteniendo constante la cantidad de muestra (9 g); en este trabajo se usaron tres tamaños de bolsa (6 x 6, 6 x 12 y 6 x 18 cm). La digestibilidad de la muestra en la bolsa que medía 6 x 18 cm fue mayor que en las otras, lo cual podría reflejar no sólo un efecto debido al tamaño de la bolsa en sí, sino la motilidad de la muestra dentro del micro-ambiente de la bolsa.

La importancia de la relación cantidad de muestra: superficie de la bolsa ha sido demostrada por Mehrez y Orskov, (1977), quienes incubaron 4.3 g de materia seca en bolsas de diversos tamaños (5 x 8, 17 x 9, 25 x 15 cm); observaron que la desaparición de materia seca de la bolsa más chica fue de 37.5% y en las otras dos de 85%. Ellos sugirieron que en la bolsa de 5 x 8 cm, no hubo una superficie suficiente para permitir la mezcla completa del alimento con el líquido y microorganismos ruminales, ni la eliminación de productos finales del metabolismo de éstos. Por otra parte, el que la digestibilidad fuera similar en las bolsas iris grandes (17 x 9 y 25 x 15 cm) indica que para tener

una repetibilidad adecuada de los resultados, el tamaño de la bolsa debe ser de 17 x 9 cm para 5 g de muestra en base húmeda.

2.4.4.2.4 Residuos microbianos

Diversos autores han demostrado que muchas especies bacterianas se asocian a las paredes celulares de las plantas a través de la cubierta de glucoproteínas, durante el proceso de degradación. El grado de adherencia microbiana varía; en los concentrados generalmente hay poca, mientras que en los forrajes es más elevada. Por tanto, los errores en el cálculo de desaparición de proteína pueden ser mayores en forrajes con bajo contenido de proteína. Varvikko y Lindbergn, (1985), informan que la velocidad con que se digirió la materia seca de forrajes fue mayor al hacer la corrección por residuos microbianos, que al no hacerla. Nocek y Grant, (1987), encontraron una relación muy baja ($r = -0.19$) entre el nivel de digestión de nitrógeno y el contenido de fibra neutro detergente en diferentes forrajes. Sin embargo, al hacer la corrección para nitrógeno bacteriano, la relación entre la digestión de nitrógeno y concentración de fibra neutro detergente fue muy alta ($R=.83$).

La adherencia microbiana aumenta con el tiempo de incubación. Esto sugiere que las bacterias se unen a las partículas del alimento hasta un determinado tiempo de exposición ruminal; después, éstas se adhieren a otros sitios, según la disponibilidad del sustrato. Además del tamaño de la partícula, al aumentar el tamaño del poro de la bolsa, se puede causar un aumento significativo en la adhesión de bacteria. Se recomienda que al menos en alimentos con bajo contenido de proteína, se haga la corrección debido a la adherencia microbiana, para lo cual se emplean distintos marcadores (ácido diaminopimélico, ácido ribonucleico (ARN), N15), pues si no se cuantifica en los residuos sin digerir, se reduce la confiabilidad de los resultados obtenidos en la digestibilidad in situ, para estimar la digestibilidad del nitrógeno, sobre todo en el caso de forrajes con bajo contenido de este.

2.4.4.2.5 Acumulación de gas dentro de la bolsa

La acumulación de gas puede afectar la digestibilidad *in situ* del alimento, ya que puede causar que las bolsas floten, lo que impide su libre movimiento dentro del rumen y limita cualquier acción mecánica causada por los movimientos ruminales. También puede reducir el flujo de líquido ruminal a la bolsa y la entrada de sustancias y microorganismos para digerir el alimento. La producción de gas es un subproducto de la fermentación microbiana; por tanto su acumulación puede inhibir el metabolismo microbiano. Por otra parte, se ha observado que bolsas con tamaños de poro grande tienden a favorecer la acumulación de gas.

Uden *et al*, (1984) y Nocek *et al*, (1987), observaron acumulación de gas en bolsas con tamaño de poro entre 20 y 30 micrómetros, mientras que Van Hellen (1977) y Ellis (1982) no observaron acumulación de gas en bolsas con poros tan pequeños como 0.2 micrómetros; asimismo estos autores y Weakley *et al*. (1977) no observaron acumulación de gas en poros desde no aparentes hasta de 52 micrómetros

2.4.4.2.6 Relación de la dieta y degradación ruminal

La dieta es el principal factor que determina la cantidad y tipo de microorganismos que se encuentran en el rumen y, por lo tanto, el grado de digestión de los nutrimentos dietarios. Por ejemplo, la alimentación de dietas altas en concentrados con un elevado contenido de carbohidratos fermentables, reduce el pH ruminal y causa un cambio en la población microbiana aumentando los organismos amilolíticos y disminuyendo los celulolíticos (Mertens y Loften, 2000).

Debido a que las muestras de alimento que se someten a pruebas de digestibilidad *in situ* están en íntimo contacto con los microorganismos ruminales, es muy importante que se encuentren en el rumen, aquellos capaces de digerir el tipo de alimento estudiado.

Mertens y Loften, observaron que el grado de digestión de la pared celular de diferentes forrajes disminuyó al aumentar el contenido de almidón en la dieta de 0 a 80 %. Algunos estudios muestran o indican que dietas altas en

concentrados disminuyen la digestibilidad de la fibra, por lo que en el caso de forrajes también puede disminuir la digestibilidad del nitrógeno; sin embargo los residuos bacterianos también pueden afectar esta interpretación. Vik-Mo y Lindberg indican que en general la desaparición de nitrógeno y materia seca en diferentes alimentos fue mayor con dietas altas en proteína. Otros investigadores han demostrado que la concentración de nitrógeno en el rumen carece de efecto sobre la desaparición *in situ* de la materia seca.

2.4.4.3 Digestibilidad *in vivo*

Para este tipo de digestibilidad tiene la finalidad de medir exactamente la cantidad de alimento consumido y de heces excretadas durante un determinado periodo de tiempo. En las pruebas convencionales de digestión los animales experimentales son alimentados con las dietas que se van a estudiar durante un periodo preliminar de dos semanas, para asegurar que los residuos de los alimentos consumidos antes de la prueba han sido eliminados del aparato digestivo (Merchen, 2000; Guerrero, 2011).

Durante el periodo preliminar se establecen niveles constantes de consumo, para evitar fluctuaciones drásticas en la excreción. El periodo preliminar va seguida de un periodo de recogida de 7 a 10 días de duración, las heces y la orina se recogen diariamente y se preparan muestras compuestas que sean representativas del periodo de recogida para su posterior análisis en el laboratorio.

La recogida de heces puede realizarse alojando a los animales en jaulas diseñadas para permitir la separación y recogida cuantitativa de heces y de orina. Otra alternativa consiste en colocar a los animales arneses y bolsas especiales que faciliten la recolección de heces (Merchen, 2000; Guerrero, 2011).

2.5 Subproductos de la industria cervecera

Existen distintos subproductos provenientes de esta industria, siendo los más comunes la levadura (seca y húmeda) y los granos de destilería, principalmente cebada con mezclas de maíz y en algunos casos arroz (seco, húmedo o ensilado) (Calsamiglia, 2004).

Estos subproductos son en general muy apetecibles, ricos en proteína con una degradabilidad intermedia y son considerados, desde un punto de vista nutricional, como un muy interesante ingrediente en raciones para vacas lecheras (Miazzi y Kraft, 1998).

2.5.1 Masilla

Los residuos de granos de cervecería (masilla) representan uno de los subproductos más importantes de la industria cervecera. Se estima que por cada 100 lts de cerveza elaborada se producen en promedio 20 kg de este subproducto (Reinold, 1997).

Estos residuos de cervecería pueden comercializarse en forma seca o en forma húmeda. El contenido de humedad en los residuos húmedos oscila entre 650-800 gr/kg (Grasser *et al.*, 1995). Los residuos secos se pueden comercializar más fácilmente debido a su bajo contenido de humedad, sin embargo la utilización de los residuos en forma húmeda se ha incrementado considerablemente, considerando que el secado de los residuos implica un manejo que incrementa los costos de producción. El contenido de proteína cruda es similar o un poco superior al de la harina de germen de maíz, pero el TDN se presenta en menor cantidad para la masilla (Grasser *et al.*, 1995).

La proteína en este subproducto ha sido reportada como resistente a la degradación ruminal (Satter y Whitlow, 1997), lo que proporciona dos potenciales ventajas como fuente de proteína para rumiantes:

- **Eficiente uso de nitrógeno:** Una combinación de una proteína de baja degradabilidad con urea, provee a los microorganismos del rumen suficiente nitrógeno para cubrir sus requerimientos y al mismo tiempo se

minimiza la pérdida de nitrógeno como lo es la absorción de amonio en el rumen (Krause, 1973).

➤ Proteína de sobrepaso (by-pass): Estos productos son una fuente importante de proteína poco degradable en el rumen, ya que el proceso de fermentación usado en la elaboración de cerveza, hace que la proteína sea menos soluble en el rumen y por lo tanto más disponible para el proceso digestivo y absorción en la parte baja del tracto digestivo, lo cual es sumamente importante en los animales con altos niveles de producción (Krause, 1973).

2.5.1.1 Aspectos nutricionales de la masilla

La masilla contiene de 75 a 80 % de agua al finalizar el filtrado. Debido entonces a su elevado contenido de humedad deberá ser usada inmediatamente o almacenado en un ambiente anaerobio pues se descompone rápidamente (Kayouli y Lee, 1998).

Calsamiglia (2004) caracteriza el contenido nutricional de la masilla, mencionando que es un subproducto rico en proteína, siendo su contenido proteico medio de un 24-26% sobre materia seca. El extracto etéreo representa un 6%. Es un subproducto rico también en fibra, con un contenido en FND del 44% y en FAD del 20%, aunque se trata de una fibra muy poco efectiva (18%). El contenido en lignina es de un 5% y el de cenizas de un 7%. En el residuo mineral destaca el contenido en P (6 g/kg), siendo más bajo (3 g/kg) el contenido en Ca.

La degradabilidad efectiva de la proteína es baja (50%), siendo la velocidad de degradación de un 7% por hora. Se trata pues de un alimento de elevado contenido proteico, siendo ésta una proteína que escapa en buena parte de la degradación ruminal (Calsamiglia 2004).

El contenido de proteína de la masilla puede considerarse como una porción significativa de suplemento proteico, además aporta fibra con lo cual se

aumenta el volumen de las dietas para rumiantes (Westendorf and Wohlt, 2002). En base seca, este subproducto contiene en promedio de 220 a 280 g/kg de PC y 2.5 Mcal de EM (NRC, 2001).

2.5.1.2 Proceso de obtención

La masilla o cebadilla de cerveza es un producto resultante de la elaboración de mosto de cerveza con el empleo de malta de cereales después de la solubilización de los almidones (Stone, 1998).

Por su alto grado de digestibilidad y por la función reguladora que explica su fermentación ruminal es considerado un óptimo alimento para bovino de leche o carne. Su empleo permite un aumento de la ingestión de substancia seca y mejora de la digestibilidad de la ración entera (Stone, 1998).

El proceso actual de producción de cerveza utiliza los carbohidratos solubles presentes en el grano de cebada, por lo que los materiales restantes (cascarilla) constituyen el residuo lignocelulósico generado por esta industria (figura 2.9) (Aguilar y Canilazes. 2005).

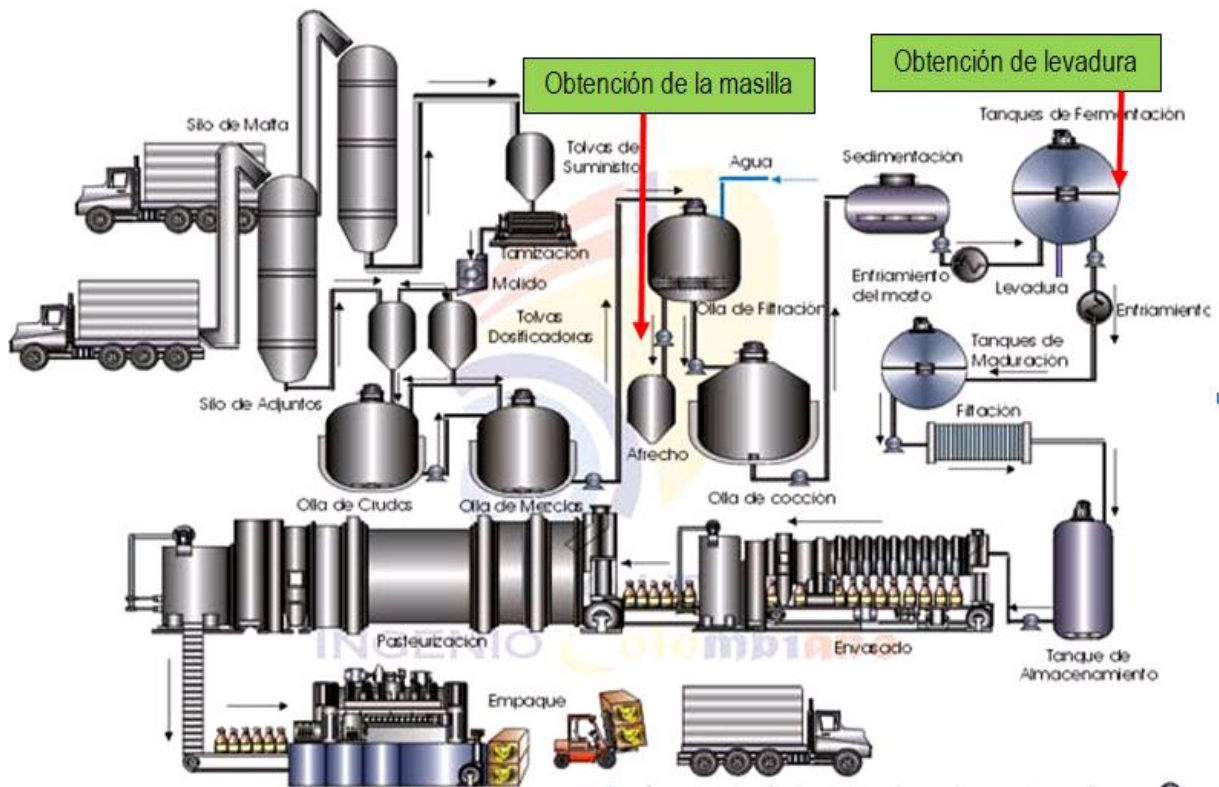


Figura 2.8.- Proceso de elaboración de la cerveza y etapas donde se generan los subproductos (adaptado de Reinold, 1997).

La masilla contiene de 75 a 80 por ciento de agua al finalizar el filtrado. Debe ser usado inmediatamente o almacenado en un ambiente sin aire pues se descompone rápidamente. Se puede almacenar hasta por dos semanas en una parva compactada y cubierta con sacos o una cubierta plástica.

2.5.2 Levadura

La levadura se ha administrado a los animales en el alimento durante más de 100 años, ya sea en la forma de una masa fermentada producida en algunas explotaciones pecuarias, o como subproductos de levaduras de cervecería y destilería (García, 2007).

2.5.2.1 Tipos de levadura

Según Bruning y Yokoyama (1988) la levadura *Saccharomyces cerevisiae*, puede tener 3 variantes, es decir, que sea activa, inactiva o enriquecida.

2.5.2.1.1 Levadura activa

Levadura viable con un conteo de 10 mil a 20 mil millones de células vivas por gramo, esta levadura se utiliza principalmente como probiótico, algunas de sus funciones son:

- Promotor de crecimiento
- Mayor ganancia de peso.
- Cambio de alimentos más rápidos.
- Acción estimulante de la inmunidad.
- Mejora la asimilación de nutrientes.
- Corrige el balance de la población microbiana.

2.5.2.1.2 Levadura inactiva

Esta levadura, tiene casi nula viabilidad, prácticamente 1.0×10^2 células vivas por gramo. El hecho de hacerse inactiva es para aprovechar otras bondades cuando es fermentada a pH bajo, como es el ser apetecible por ciertas especies que no toleran fácilmente consumir alimentos de origen vegetal.

Cuando ha sido fermentada a pH bajo es un excelente potenciador de sabor.

- Fuente natural rica en proteínas - Mejora la palatabilidad del alimento.
- Una fuente natural de vitaminas B.
- Buen equilibrio de aminoácidos esencial, con niveles altos de lisina.
- Es un buen complemento del alimento balanceado
- Aumenta la calidad cuando se mezcla en la fabricación de Pellets, que induce las siguientes ventajas:
 - Reduce pérdida de alimento.
 - Reduce la pérdida de energía por animales.
 - Aumenta la digestibilidad de los nutrientes.

2.5.2.1.3 Levadura inactiva enriquecida

En esta levadura lo que se trata de aprovechar principalmente, es que esta enriquecida orgánicamente con algún micro mineral, lo que se traduce, es una mejor biodisponibilidad de éste. En estas levaduras se pueden encontrar las enriquecidas con selenio, cromo, hierro, zinc, manganeso, cobre, molibdeno, etc.

2.5.2.2 Levadura como subproducto de la industria cervecera

La levadura constituye otro de los importantes subproductos de la industria cervecera, la cual puede ser usada como fuente alternativa de energía y proteína en animales domésticos (figura 2.6). Este producto es rico en proteínas y contiene considerables cantidades de macro y micro minerales (Miazzo y Kraft, 1998).

Su importancia se basa en que aporta un 40% de proteína bruta con excelente valor biológico y ninguna sustancia tóxica ni alergénica si se maneja en adecuadas condiciones ambientales (Stone, 1998). Además se ha observado que mejora la digestibilidad y absorción de los nutrientes e inhibe la colonización de bacterias patógenas (Perdomo *et al.*, 2004). Sin embargo, el valor nutritivo de la levadura varía dependiendo del sustrato utilizado para su crecimiento y, también del proceso industrial al cual es sometida (Álvarez y Valdivie, 1980).

Cuadro 2.5.- Características químicas y nutritivas de la levadura de cerveza (Álvarez y Valdivie, 1980).

| En Base a Materia Seca | |
|------------------------|----------------|
| Materia Seca | 15 % |
| Energía Bruta | 4.623 Kcal/Kg. |
| Energía Digestible | 3.795 Kcal/Kg. |
| Energía Metabolizable | 3.392 Kcal/Kg |
| Grasa Bruta | 1.90 % |
| Fibra Bruta | 3.00 % |
| Azúcares | 7.40 % |
| Proteína Bruta | 47.00 % |
| Lisina | 3.60 % |
| Metionina | 0.75 % |
| MET-CIS | 1.30 % |
| Triptófano | 0.59 % |
| Treonina | 2.37 % |
| Calcio | 0.15 % |
| Fósforo Total | 1.50 % |
| Proteína Degradable | 24.44 % |
| Proteína By Pass | 22.56 % |

| | |
|-------------------------|-----|
| Fibra Neutro Detergente | 7 % |
|-------------------------|-----|

Se ha estudiado la inclusión de grano húmedo de cervecería (GHC) y la crema final de levadura (CFL) en dietas integrales conteniendo 55 a 60 % de forraje y 6 % de pollinaza. Se ha encontrado que el uso de 30 por ciento de GHC y 6 por ciento de CFL permite ganancias de peso de 700 a 850 gramos por día (Clark *et al.*, 1976).

Preston *et al.* (1973) mencionan en su investigación, que las características de la pared ruminal de toretes de engorda haci, como la calidad de su canal son muy aceptables cuando se utilizan entre 25 y 50 % de masilla en el total de la ración.

Clark *et al.* (1976) señalan que el valor nutritivo del GHC disminuye a medida que los novillos alcanzan el peso al mercado, debido a la falta de energía en la dieta. La adición en su caso de melaza o sorgo debe hacerse durante la última fase de la engorda, disminuyendo el forraje y cuando los animales tienen un peso de 390 a 410 kg. Con la adición de melaza pueden esperarse ganancias diarias de peso de 1.0 a 1.15 kg. y con la adición de sorgo hasta de 1.3 kg

Hatch *et al.* (1972); estudiaron el efecto del uso de granos de destilería, maíz y granos desecados de cervecería con levadura en raciones que contenían urea, en el comportamiento productivo de novillos de la raza Hereford; y determinaron que la inclusión en un 5% de los granos de destilería resultó en un aumento significativo en la retención de nitrógeno ($P < 0.05$). También hubo una disminución de amoníaco en el rumen ($P < 0.10$) y en las concentraciones de urea plasmática ($P < 0.05$). Estos resultados apuntan a un aumento de utilización de urea y la conversión de ella en proteína por los animales.

Preston *et al.* (1973) al evaluar la adición de diferentes niveles de masilla (forma seca) en novillos, encontraron ganancias de pesos significativos

($P < 0.05$) en comparación con novillos que no recibieron en su alimentación dietas con inclusión de masilla.

Monje *et al.* (1992) llevaron a cabo un ensayo bajo condiciones de corral utilizando raciones con alto contenido de malta húmeda en la alimentación de novillos de uno y dos años. Los animales se alojaron en corrales grupales imponiéndose los siguientes tratamientos (raciones expresadas en MS): **T1**: novillos de dos años con acceso a una ración compuesta por 50% de malta húmeda, 20% de afrecho de arroz, 10% de heno de moha (*Setaria itálica*) y 20% de grano de sorgo; **T2**: novillos de dos años con una ración compuesta por 50% de malta húmeda; 30% de afrecho de arroz y 20% de grano de sorgo; **T3**: novillos de un año con igual ración a T1, **T4**: novillos de un año con igual ración a T2. La experiencia tuvo una duración de 62 días y durante este período los animales fueron manejados exclusivamente a corral.

Los resultados obtenidos fueron para consumo 11.7 para los novillos de 2 años y 6.5 para los novillos de 1 año. En cuanto a ganancia de peso se obtuvieron los siguientes resultados, T1=1.22 kg/día, T2=0.92kg/día, T3=1.25kg/día, T4=1.91kg/día. El análisis de los datos no detectó interacción significativa (categoría x ración) ($p > 0.05$).

Crickenberger y Johnson (1982) realizaron un estudio para evaluar el efecto de los granos húmedos de cervecería (GHC) en la dieta de novillas de la raza Angus. Para el efecto utilizaron 36 animales con una edad y peso promedio de 10 meses de 201 kg respectivamente, asignados en 9 corrales de en grupos de 4 animales en cada corral. Durante el periodo de evaluación, las novillas recibieron los siguientes tratamientos: **T1**: ensilado de maíz sin suplemento proteico, 6.7% PC. **T2**: ensilado de maíz adicionado con 33.8% de GHC en base a MS, 14.6% PC. **T3**: 62.2% (BMS) de GHC, 10.8% (BMS) de maíz y 26.1% (BMS) de heno fresco; 22.1% PC.

Al final del periodo de evaluación, 112 días, la GDP fue mayor ($P < 0.05$) en los animales del T2 quienes obtuvieron ganancias diarias de peso de 0.730 kg/día, sobre el T1 donde se reporta una GDP de 0.500 kg/día y el T3 donde se

reportan 0.560 kg/día de GDP. En cuanto al consumo diario reportan un consumo similar entre el T1 y T2, 35% más ($P < 0.05$) que el T3 y una conversión alimenticia de 9.52:1 para el T1, 6.34:1 para el T2 y 6.13:1 para el T3 ($P < 0.05$).

Lara (1976) llevó a cabo un experimento utilizando 24 becerros de la raza Holstein, de los cuales 21 eran puros y 3 cruzados con razas cebuinas; con una edad promedio de 3 a 9 meses de edad y un peso promedio de 108.33 kg. Los mismos fueron alimentados durante 112 días (4 periodos de 28 días), con los siguientes tratamientos: **T1**: 15 kg de residuo de cervecería (masilla), 1kg de concentrado con 14% de proteína y forraje a libre acceso **T2**: 11.7 kg de residuo de cervecería (masilla), 1kg de concentrado con 14% de proteína y forraje a libre acceso **T3**: 8.3 kg de residuo de cervecería (masilla), 1kg de concentrado con 14% de proteína y forraje a libre acceso **T4**: 5.0 kg de residuo de cervecería (masilla), 1kg de concentrado con 14% de proteína y forraje a libre acceso

Durante la primera etapa obtuvo una GDP de 0.39 kg para el T1, 0.315 kg para T2, -0.060 kg para T3, y 0.183 kg para T4. Lo que respecta a la segunda etapa obtuvo GDP para el T1: 0.799 kg, T2: 0.667 kg, T3: 0.671 kg, T4: 0.660 kg, los aumentos de los tratamientos 2, 3 y 4 son similares sobresaliendo el tratamiento 1 al igual que en la primera etapa. El tratamiento 3 que en la primera etapa reportó pérdidas en peso de los animales durante esta etapa mostro un comportamiento similar a los tratamientos 2 y 4, el autor atribuye esto a los aumentos de peso compensatorio.

En la tercera etapa reporta aumento de peso diarios para el T1: 0.580 kg, T2: 0.466 kg, T3: 0.207 kg, T4: 0.121 kg; comparando esta etapa con la segunda, se registró una disminución en la GDP debido a que hubo un cambio en la alimentación (forraje) aunado al mal tiempo que prevaleció en esos días. En la cuarta etapa se obtuvieron GDP para el T1: 0.928 kg, T2: 0.839 kg, T3: 0.883 kg, T4: 0.811 kg.

Garciarena *et al.* (1992), en un ensayo realizado para determinar el efecto de la suplementación con malta húmeda sobre el ambiente ruminal y la dinámica de digestión utilizaron 3 novillos de la raza Hereford fistulados. Los mismos fueron alimentados con raciones de 0, 30 y 60% de malta húmeda complementada con heno picado durante tres periodos experimentales de 20 días cada uno. Se registró un leve aumento en el consumo con mayores niveles de malta húmeda ($P < 0.05$).

Hofer *et al.* (1992), evaluaron el efecto de la malta húmeda en la dieta de terneros destetados precozmente en condiciones de confinamiento. Para el estudio utilizó diez terneros de la raza Hereford los cuales fueron alimentados con dos tratamientos durante setenta días con frecuencia quincenal en el que se evaluó la ganancia diaria de peso. Los tratamientos utilizados fueron **T1**: 50% de malta húmeda. 30% de salvado de arroz y 20% de grano de sorgo; y **T2**: 50% de malta húmeda. 20% de salvado de arroz. 20% de grano de sorgo y 10% de heno de moha (*Setaria itálica*).

Los valores de ganancia de peso no difirieron entre tratamientos ($P = 0.273$). En términos productivos, ambas raciones posibilitaron lograr sostenidos incrementos de peso, exhibiendo además favorables relaciones de eficiencia. Al respecto, los registros promedios de consumo voluntario fueron similares en ambos tratamientos (datos grupales, no analizados estadísticamente), del orden del 4,2 kg MS/animal/día, resultando relaciones de conversión de 5.47:1 y 4.74:1 para T1 y T2, respectivamente.

2.5.4 Uso de la levadura en otras especies de rumiantes

En cuanto a perfil ruminal se refiere, Besong *et al.* (1996) realizaron un estudio donde utilizaron 0, 20 y 40 % de levadura líquida en la ración de vacas lecheras, concluyeron que el uso de la levadura está asociado con un decremento en la producción de acetato, y un decremento en la relación acetato: propionato (figura 2.7).

Cuadro 2.6.- Concentración ruminal de AGV's, porcentajes molares y pH de líquido ruminal de vacas alimentadas con diferentes niveles de levadura en la ración (Besong *et al.*, 1996).

| Item | 0% YP ¹ | 20% YP | 40% YP | SE | P | |
|------------------|--------------------|--------|--------|------|-----------------|------|
| | | | | | L | Q |
| Ruminal pH | 6.23 | 6.14 | 6.13 | 0.06 | NS ³ | NS |
| VFA, mol/100 mol | | | | | | |
| Acetate (A) | 65.38 | 64.09 | 61.33 | 1.08 | 0.06 | NS |
| Propionate (P) | 18.16 | 19.21 | 21.36 | 0.68 | 0.03 | NS |
| Isobutyrate | 1.67 | 1.68 | 1.62 | 0.66 | NS | NS |
| Butyrate | 11.87 | 11.80 | 12.69 | 0.53 | NS | NS |
| Isovalerate | 1.12 | 1.24 | 0.92 | 0.07 | NS | 0.07 |
| Valerate | 1.83 | 1.99 | 2.09 | 0.12 | NS | NS |
| VFA, mmol/L | | | | | | |
| Total | 117.7 | 124.0 | 125.8 | 9.7 | NS | NS |
| A:P | 3.62 | 3.34 | 2.93 | 0.13 | 0.02 | NS |

¹Percentage of total ration (as-fed basis).

²L = Linear effect; Q = quadratic effect.

³P > 0.10.

Aguilera *et al.* (2007) mencionan que raciones con niveles elevados de masilla, no se afecta el crecimiento, fermentación ruminal ni los parámetros digestivos de corderos de engorda, aunque el contenido de materia seca, FDN, FDA y EE tiene una gran variación cuando se aumentan los niveles de masilla en la dieta.

III. MATERIALES Y MÉTODOS

El presente trabajo se realizó en Laboratorio de producción Animal de la Universidad Autónoma Agraria y en la Unidad Académica de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Autónoma de Zacatecas. Con una localización geográfica 25° 22' de latitud Norte, longitud 101° 00' oeste, a una altitud de 1742 msnm.

3.1 Elaboración de las muestras experimentales

Las diferentes mezclas alimenticias evaluadas en la presente investigación provienen de cuatro productos peletizados. Los productos peletizados corresponden un proyecto de investigación en el cual a partir de diferentes mezclas alimenticias a base de subproductos se seleccionaron las cuatro mejores formulas que mayor calidad del pelet presentaban. Dicha calidad estaba basada en la estabilidad del producto final. Para la elaboración de los productos peletizados se establecieron las mejores condiciones considerando principalmente tamaño de partícula (< 6mm) contenido de humedad (<22 %), nivel de aglutinante (<5%) y contenido de nutrientes empleando diversos subproductos agroindustriales. Los productos peletizados fueron elaborados

por el M.C. Alberto Guerrero Rodríguez, en la Unidad Académica de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Autónoma de Zacatecas. Las proporciones de los ingredientes de las mezclas a peletizar se muestran en el cuadro 3.1.

Cuadro 3.1.- Formulas alimenticias utilizadas para la elaboración de los productos peletizados a base de subproductos agroindustriales. Representa en por ciento (%)

| Ingrediente | Pelet 1 (%) | Pelet 2 (%) | Pelet 3 (%) | Pelet 4 (%) |
|----------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|
| Masilla | 20 | 0 | 18 | 0 |
| Levadura | 0 | 15 | 5 | 9 |
| Bagazo de maíz | 15 | 15 | 13 | 36 |
| Bagazo de papa | 10 | 12 | 10 | 4.2 |
| Residuos de frituras | 10 | 10 | 5 | 8.4 |
| Salvadillo | 26 | 23 | 19 | 29.5 |
| Pollinaza | 6 | 6 | 6 | 0 |
| Melaza | 10 | 10 | 15 | 8.7 |
| Zeolita | 3 | 9 | 9 | 4.2 |

3.2 Análisis de las muestras

El análisis bromatológico de las muestras experimentales fueron determinados por los métodos de la AOAC (1997): humedad (método 925.09) cenizas (método 923.03); grasa cruda o extracto etéreo (método 920.39) proteína cruda (Kjeldahl) (método 954.01) usando 6.25 como un factor de

conversión de nitrógeno proteína, fibra cruda (método 962.09). Al igual que los carbohidratos se estimaran como el extracto libre de nitrógeno (ELN) calculado como el porcentaje faltante para completar el 100 % de los componentes. La fibra detergente neutro (FDN) se determinó según procedimiento publicado por Goering y Van Soest, (1970).

3.3 Determinación de la degradación *in vitro*

Las muestras en estudio fueron incubadas en líquido ruminal de acuerdo con la metodología Daisy^{II} (ANKOM Corp, NY, EEUU 2008). El medio estuvo compuesto por una solución macromineral (9.35 g/l de $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$, 6.2 g/l de KH_2PO_4 y 0.6 g/l de $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$), una solución micromineral (132 g/l de $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, 100 g/l de $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, 10 g/l de $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ y 80 g/l de $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$), una solución tampón (4.0 g/l de NH_4HCO_3 y 35 g/l de NaHCO_3), indicador (0.01 g/l de rezasurina) y agente reductor (625 mg HCl cisteína, 95 ml de agua destilada, 4.0 ml de 1M NaOH y 625 mg de $\text{Na}_2\text{S} \cdot 9\text{H}_2\text{O}$). Estas soluciones se mezclaron en el siguiente orden y proporción: 500 ml de agua destilada, 200 ml de solución tampón, 200 ml de solución micromineral y 1 ml de solución indicadora, para esta técnica se emplearon los siguientes reactivos y materiales:

A) Reactivos

| | |
|---|---------|
| a) Solución Buffer A: | g/litro |
| KH_2PO_4 | 10.0 |
| $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ | 0.5 |
| NaCl | 0.5 |
| $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ | 0.1 |
| Urea (Reactivo de marca) | 0.5 |
| b) Solución Buffer B: | |
| Na_2CO_3 | 15.0 |
| $\text{Na}_2\text{S} \cdot 9\text{H}_2\text{O}$ | 1.0 |
| c) Inoculo fluido de rumen | |

B.- Aparatos

a) Incubadora DAISY

Aparato de filtración

Bolsa que impulsa a sellar el calor

Cilindros graduados de 1 L y 500 ml.

2 termos

Tela para filtrar (gasa).

3.3.1 Obtención del líquido ruminal

El líquido ruminal se obtuvo en el rastro TIF de Saltillo, a partir de un animal de engorda manejado en sistema intensivo el cual recibió en su última etapa alimenticia 85% de concentrado a base de granos de cereales y harinas proteicas (harinolina y soya) y 15% de forraje de avena molturado con un tamaño de partícula máximo de 15 mm.

3.3.2 Incubación de las muestras

La degradación *in vitro* (DIV) consistió en la incubación de cada uno de las muestras alimenticias a diferentes tiempos (0, 6, 12, 24, 48, 72 y 96 horas). Se utilizaron 84 bolsas (4 tratamientos x 3 repeticiones x 7 tiempos) con 0.5 g de muestra alimenticia cada una más 3 blancos (bolsas sin muestra) usados con el objetivo de ajustar los resultados al efecto que tiene el uso de este tipo de bolsas sobre los valores de degradación. Las bolsas de nylon empleadas tenían una longitud de 10 cm. de ancho x 15 cm de largo y con un tamaño de poro de 53 μm de diámetro.

El incubador Daisy utilizado para la determinación de la degradación *in vitro* contenía cuatro recipientes de vidrio con capacidad para cuatro litros cada uno. En cada recipiente se introdujeron 21 bolsas de nylon a una temperatura constante de 39⁰C adicionando CO₂ en cada uno de los frascos. Los recipientes del incubador DAISY presentaron constante rotación con el objetivo de simular mayormente las condiciones ruminales. Una vez retiradas las bolsas de la incubación en base al tiempo correspondiente se procedió a enjuagarlas, escurrirlas y posteriormente secarlas en la estufa por 24 horas. La diferencia entre el peso inicial de la muestra colocada en las bolsas y el peso del residuo

después de la incubación, descontándose el peso de la bolsa vacía, fue utilizada para determinar la desaparición de la MS en el rumen (Ørskov and McDonald 1979). En este sentido, para realizar el cálculo del nivel de degradación *in vitro* de la materia seca de cada una de las muestras se utilizó la siguiente ecuación.

$$\%DIV Ms = \frac{100 - (W3 - (W1 \times C1))}{W2 \times Ms} \times 100$$

Donde:

W1= Peso de la bolsa tarada (vacía)

W2= Peso de la muestra

W3= Peso final de la muestra (bolsa) después de la digestión *in vitro*

C1= Corrección de la bolsa (blanco) (peso original de la bolsa/peso final).

Ms= % de materia seca.

3.4 Ajuste de la cinética de degradación a diferentes tasas de flujo ruminal

Con objeto de complementar la información obtenida se calcularon los niveles de degradación obtenidos a diferentes tasas de flujo ruminal mediante la utilización del programa NEWAY Program (Rower Research Institute).

Las curvas de degradación fueron ajustadas asumiendo que la desaparición de la MS de los sacos de nylon en el tiempo sigue un proceso cinético de primer orden, descrito por la ecuación:

$$P(t) = a + b(1 - \exp(-c \cdot t))$$

Donde:

P es la cantidad de alimento que desaparece del saco después de un tiempo *t* de permanencia en el rumen,

a es la fracción rápidamente degradable,

b es la fracción lentamente degradable,

c es la tasa de degradación (h^{-1}) de la fracción *b* (Ørskov and McDonald 1979).

3.5 Análisis estadístico

Para evaluar si existe diferencia significativa entre tratamientos en las variables referentes a la degradación *in vitro* y a los valores ajustados a tasa de flujo ruminal se utilizó un diseño completamente al azar mediante el procedimiento GLM utilizando el paquete estadístico MINITAB (versión MES3.3.0). Las regresiones para cada tratamiento también fueron realizadas mediante el mismo paquete estadístico. Los valores de degradación de la materia seca se ajustaron a la tasa de flujo ruminal (k) mediante la utilización del programa NEWAY Program (Rower Research Institute). La comparación de medias post-ANOVA se realizó mediante la prueba de Tukey.

| | MS (%) | PC (%) | FC (%) | FDN (%) | FDA (%) | EE (%) | Cenizas (%) | ELN (%) | Ca | P |
|----------------|--------|--------|--------|---------|---------|--------|-------------|---------|------|------|
| Pelet 1 | 88,64 | 9,20 | 5,09 | 47,07 | 8,52 | 5,49 | 11,53 | 68,69 | 0,08 | 0,07 |
| Pelet 2 | 87,10 | 9,80 | 5,67 | 54,46 | 11,21 | 4,56 | 27,57 | 52,40 | 0,08 | 0,08 |
| Pelet 3 | 87,69 | 9,02 | 7,17 | 55,32 | 13,94 | 3,54 | 24,19 | 56,08 | 0,09 | 0,05 |
| Pelet 4 | 88,58 | 8,90 | 4,59 | 55,32 | 7,57 | 6,03 | 16,51 | 63,79 | 0,07 | 0,05 |

IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 Caracterización química

La caracterización química de los productos alimenticios se presenta en el cuadro 4.1. En él se puede apreciar que a pesar de que las cuatro mezclas presentan propiedades físicas (tamaño de partícula, color y dureza) muy similares su composición química puede llegar a ser muy diferente, situación que puede impactar su inclusión en programas alimenticios para rumiantes.

Cuadro 4.1.- Análisis bromatológico, correspondiente a los cuatro tratamientos utilizados en esta investigación.

Numéricamente se puede observar que los cuatro tratamientos son similares en cuanto al contenido de proteína cruda se refiere, sin embargo existen ciertas diferencias en las fracciones de fibra especialmente de FDA las cuales eventualmente pudieron impactar sobre los resultados de degradación que serán presentados más adelante. Otro apartado en el cual parece haber ciertas diferencias es en el contenido de cenizas de cada tratamiento, lo anterior puede tener sentido si consideramos que el nivel de zeolita (ingrediente con escaso contenido de materia orgánica) fluctuó en cada uno de los tratamientos con el objeto de mejorar la consistencia del producto final en base a los ingredientes que estaban siendo utilizados.

4.2 Cinética de degradación de la materia seca

Los niveles de degradación *in vitro* de la materia seca se presentan en el cuadro 4.2. No se encontraron diferencias significativas para los tiempos 0, 6, 24, 48, 72 y 96 horas ($P > 0.05$). Sin embargo se presentaron diferencias entre tratamientos en la incubación a 12 horas ($P < 0.05$).

Cuadro 4.2.- Nivel de degradación de la materia seca de diferentes tratamientos elaborados a base de subproductos agroindustriales.

| TRATAMIENTO | Tiempo (h) | | | | | | |
|-------------|------------|------|--------|------|------|------|------|
| | 0 | 6 | 12* | 24 | 48 | 72 | 96 |
| 1 | 30.8 | 49.4 | 61.2a | 63.5 | 63.6 | 64.5 | 64.9 |
| 2 | 30.5 | 52.4 | 60.3ab | 61.2 | 65.1 | 66.1 | 66.9 |
| 3 | 32.2 | 52.9 | 57.1b | 59.9 | 63.6 | 63.4 | 63.5 |
| 4 | 25.9 | 50.1 | 62.7a | 64.6 | 61.0 | 65.9 | 66.5 |

* Literales diferentes muestran diferencias significativas entre tratamientos ($P < 0.05$). Los valores reportados para el tiempo "0" corresponden a la pérdida de material de la bolsa al ser sumergidos y retirados al instante en líquido ruminal.

En base a lo señalado por otros autores (Wallace, 1985; NRC, 2001; Rotger, 2004) se puede observar que para los cuatro tratamientos, en sus diferentes tiempos (0, 6, 12, 24, 48, 72 y 96 horas) se tiene un comportamiento normal, en cuestión de degradabilidad, es decir, a mayor tiempo, mayor degradación de los componentes de las mezclas alimenticias. Sin embargo haciendo un análisis en particular de cada uno de ellos, se observa que el **T3** (18% de masilla – 0% de levadura) en el tiempo cero, presenta mayor pérdida de material en las bolsas muy posiblemente debido a que este tratamiento presentan mayor cantidad de componentes solubles situación que provoca que se pierda material rápidamente, o al menos, en mayor cantidad al contacto con el líquido ruminal y los microorganismos. Sin embargo, para los tiempos restantes el **T3** fue el que obtuvo menor degradación. Se puede entender que a pesar de que este tratamiento presenta elevado contenido de material soluble la fracción restante puede corresponder a material con menor potencial de degradación en relación al presentado en los tratamientos **T1**, **T2** y **T4**. En este contexto el tratamiento con 18% de masilla y 5% de levadura puede ser el menos recomendable desde el punto de vista de degradación. Sin embargo, la adición de masilla en la mezcla no parece ser la encargada por si sola de provocar el decremento en la degradación ya que dicha reducción no se presenta al adicionar 20% de masilla (**T1**). En este sentido, Aguilera *et al.* (2007) mencionan que raciones con niveles elevados de masilla, no afecta el crecimiento, **fermentación ruminal** ni los parámetros digestivos de corderos de engorda, aunque el contenido de materia seca, FDN, FDA y EE tiene una gran variación cuando se aumentan los niveles de masilla en la dieta.

Por otra parte, los resultados observados hasta esta etapa de cierta manera no coinciden con lo reportado por Guerrero (2009). Dicho autor trabajando con ganado bovino de engorda reportó un efecto asociativo entre masilla y levadura de cerveza, situación que generaba mejores resultados en el comportamiento productivo de los animales en relación a la utilización de dichos ingredientes por separado. Lo anterior puede contradecir los resultados de la presente investigación basado en el hecho de que la respuesta animal tiene una inmensa relación con el nivel de degradación de la materia seca a nivel ruminal, En este caso cabría la distinción de que una prueba *in vivo*

considera más factores asociados a la digestibilidad en relación a una prueba *in vitro* como lo fue en este caso la incubación mediante el digestor Daisy.

Aun con los decrementos observados en el **T3** los valores de degradación reportados para el mismo en el tiempo 12 son mayores a lo reportado por Navarro *et al.* (2011) ya que ellos obtuvieron un porcentaje de 39.70 mientras que esta investigación obtuvo para el mismo tiempo un porcentaje de 52.9. Claro está que existe una diferencia en el material utilizado, ya que estos autores trabajaron con forraje *Brachiaria decumbens* mientras que en la presente investigación se trabajó con concentrados. Aun así los valores reportados se consideran aceptables e incluso por encima de los valores promedio para este tipo de materiales.

Los resultados del cuadro 4.2 se presentan de manera más grafica en la figura 4.1 demostrando la cinética de la degradación de la materia seca en un análisis del comportamiento individual de cada uno de los tratamientos.

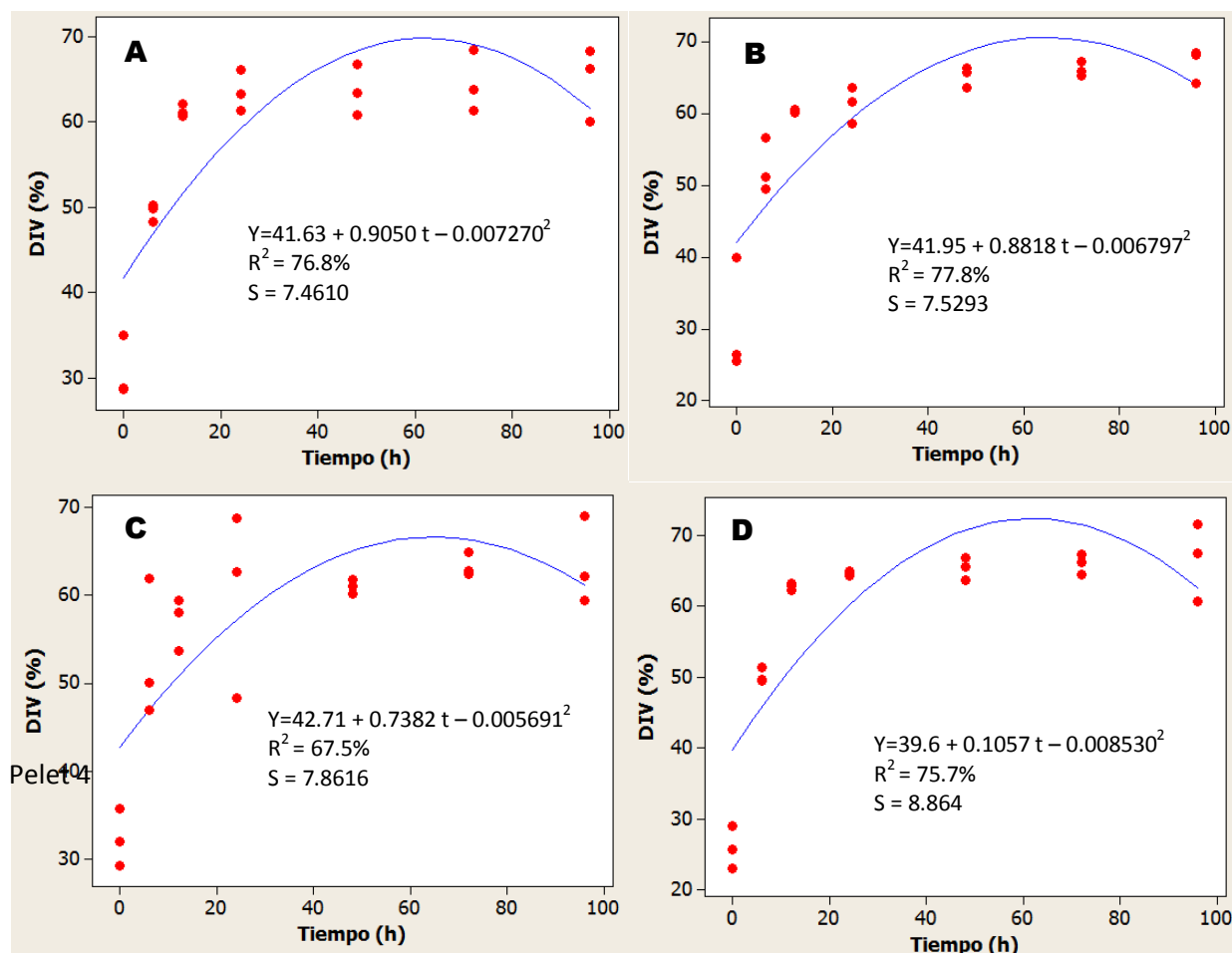


Figura 4.1.- Cinética de degradación de la materia seca estimada como porcentaje de degradación *in vitro* para cada uno de los cuatro tratamientos. A: tratamiento 1; B: tratamiento 2; C: tratamiento 3 y D: tratamiento 4.

Como se observa en las graficas, en cada uno de los tratamientos existe un comportamiento ascendente inicialmente, llegando a un punto máximo, donde posteriormente comienza a decrecer, lo que en realidad representa el punto en que se empieza a alcanzar la fracción C del alimento (Sniffen *et al.*, 1990). Estas figuras muestran como se comportó la cinética de degradación de los tratamientos durante toda la degradación *in vitro*. A partir de las graficas de regresión y de las ecuaciones generadas en las mismas se realizó el cálculo de lo que es el punto máximo de degradación de la materia seca (MDMS) el cual se presenta en el cuadro 4.3.

Cuadro 4.3.- Punto máximo de degradación de la materia seca (MDMS) y tiempo requerido para alcanzar este nivel en diferentes mezclas alimenticias elaboradas a base de subproductos de cervecería

| TRATAMIENTO | MDMS (%)* | TR (h) |
|-------------|-----------|--------|
| T1 | 69.2a | 63 |
| T2 | 70.5a | 65 |
| T3 | 66.6b | 65 |
| T4 | 72.3a | 65 |

* Literales diferentes muestran diferencias significativas entre tratamientos (P<0.05).

En el cuadro 4.3 se observa que los puntos máximos alcanzados para los diferentes tratamientos muestran diferencia significativa (P<0.05). El **T3** continúa siendo el tratamiento menos rentable desde el punto de vista de degradación ya que el MDMS, fue el más bajo de los cuatro tratamientos debido principalmente a la composición de química de la mezcla, ya que esta presentaba una combinación de masilla y levadura mientras que para los tratamientos, **T1**, **T2**, y **T4**, no existió alguna diferencia ya que estos

presentaban masilla o levadura en forma no combinada. Esta situación contrasta con Ocampo, (2012) quien encontró un posible efecto asociativo importante entre ambos subproductos ya que al parecer la mejor combinación de subproductos en relación a la DIVMS y en base al tiempo se encuentra con un 75% de masilla y 25 % de levadura, ya que si bien el mayor porcentaje de degradación de esta combinación es prácticamente similar a la combinación 100% de levadura 0% de masilla el tiempo necesario para alcanzar dichos valores de DIVMS se reduce de un rango de 75:82 horas a uno de 68:74 horas lo que sugiere que los componentes de fácil degradación de la levadura dan el tiempo necesario para una adaptación por parte de los microorganismos para que en cierto tiempo alcancen una máxima degradación de los componentes de la masilla, situación que no sucede cuando se utiliza 100, 50 o 25 % de masilla.

4.3 Degradación de la materia seca ajustada a diferentes tasas de flujo ruminal

Asumiendo que estos resultados *in vitro*, representan el comportamiento de la degradación en un sistema cerrado y no de flujo continuo como sucede realmente en el rumiante se realizó un ajuste a los niveles de degradación de los tratamientos a diferentes tasas de flujo ruminal (cuadro 4.4). Lo anterior con el objeto de analizar qué pasaría con los niveles de degradación obtenidos si el desarrollo de la investigación fuese más cercano a lo natural. En este sentido se encontraron diferencias significativas ($P < 0.05$) a una tasa ruminal fraccional de **0.04, 0.05, 0.06, 0.07, 0.08, 0.09**. Mientras que para una tasa fraccional ruminal de **0.01, 0.02, 0.03, 0.010, 0.011, 0.012** no se reportaron diferencias significativas entre tratamientos ($P > 0.05$).

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

Cuadro 4.4.- Nivel de degradación de los tratamientos elaborados a base de subproductos, ajustados a diferentes tasas de flujo ruminal.

| T | Tasa de flujo fraccional ruminal (k) | | | | | | | | | | | |
|---|--------------------------------------|------|------|-------|--------|--------|-------|-------------------|-------------------|-------|-------|-------|
| | 0.01 | 0.02 | 0.03 | 0.04* | 0.05* | 0.06* | 0.07* | 0.08* | 0.09* | 0.010 | 0.011 | 0.012 |
| 1 | 59.1 | 57.3 | 55.9 | 54.4c | 53.1bc | 51.8bc | 50.6c | 47.7b | 48.3b | 47.3 | 46.3 | 45.4 |
| 2 | 59.5 | 58.0 | 56.6 | 55.3b | 54.1ab | 52.9b | 51.8b | 50.8 ^a | 50.5ab | 48.9 | 48.0 | 47.2 |
| 3 | 58.6 | 57.8 | 57.2 | 56.6a | 55.0a | 55.5a | 55.1a | 52.7 ^a | 53.1 ^a | 49.7 | 49.1 | 47.5 |
| 4 | 60.4 | 58.2 | 56.2 | 54.2c | 52.4c | 50.7c | 49.1d | 48.2b | 46.9b | 47.0 | 46.6 | 46.4 |

* Literales diferentes muestran diferencias significativas entre tratamientos (P<0.05).

En el cuadro anterior se puede observar una situación muy interesante ya que el efecto que venía presentándose con anterioridad se invirtió al ajustar los datos a diferentes tasas de flujo ruminal, es decir, previo al ajuste el tratamiento con mayor degradación de la materia seca correspondía a la mezcla con menor nivel de subproductos de cervecería (0% masilla y 9% de levadura) o **T4** y el “peor” tratamiento correspondía al **T3** (mezcla con mayor contenido de subproductos de cervecería), sin embargo posterior al ajuste esta situación se invirtió por completo (figura 4.2) para las tasas de flujo ruminal donde se presentó diferencia significativa.

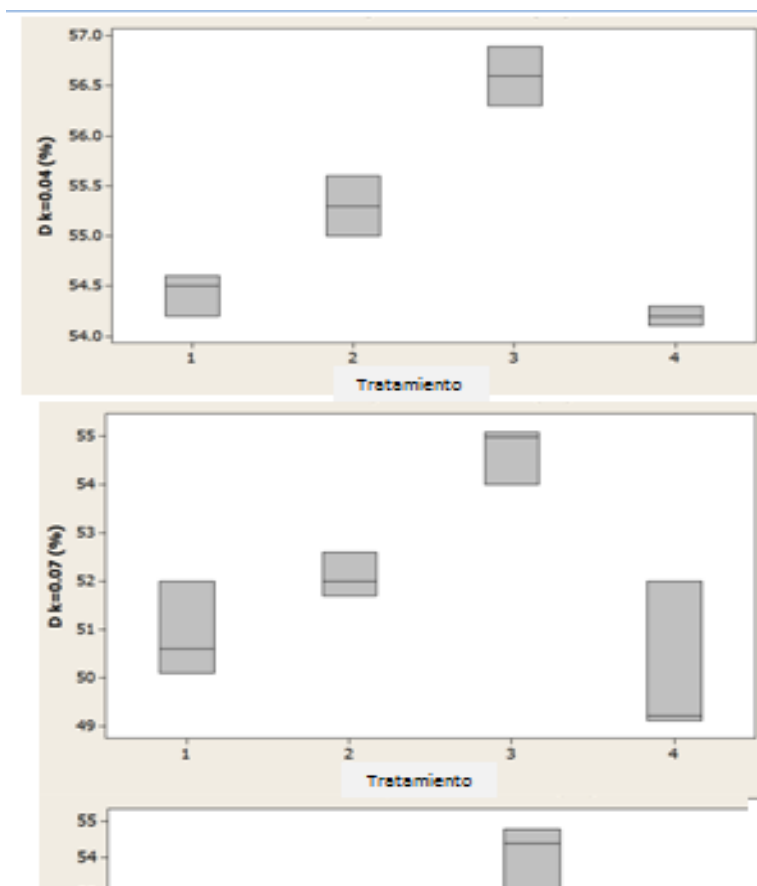


Figura 4.2.- Comportamiento de los niveles de degradación de la materia seca en diferentes tratamientos alimenticios elaborados a base de subproductos de cervecería (masilla y levadura de cerveza) ajustados a distintas tasas de flujo ruminal (0.04, 0.07 y 0.09/h).

La inversión del efecto mencionado se asocia íntimamente a la propiedad dinámica del rumen y la fluidez del contenido del mismo (Church, 1993). La fermentación de las fracciones nutricionales en el rumen obedece a una fase inicial de digestión lenta, seguida de una fase de aceleración y otra de desaceleración hasta alcanzar un valor asintótico, al que se le ha llamado digestibilidad potencial (Mertens, 1993). Este valor puede variar de acuerdo al tipo de alimento, a su estado de madurez y a la naturaleza y nivel de suplementación. Lo anterior pudo de alguna manera influir para que las propiedades del **T3** para ser degradado (en base a su contenido soluble, fracción potencialmente degradable y fracción no degradable) interactuaran de mejor manera en un sistema continuo, situación que permitió obtener mejores niveles de degradación para combinación de masilla y levadura en relación a cuando se utilizan los subproductos de cervecería de manera independiente.

Es importante mencionar que los resultados en este ajuste difieren a los resultados obtenidos de forma in vitro, ya que en este caso el **T3** es el que presenta mayor degradación de los cuatro tratamientos, debido a que la dieta como ya se ha dicho anteriormente está compuesta de masilla mas levadura, y esta presenta, un valor de FDA (fibra detergente ácida) de 13,94, mayor a los otros tratamientos, esto nos indica que a mayor FDA se presentan menores

niveles de digestibilidad o para este caso menores niveles de degradación. (Relling y Mattioli, 2003).

V. CONCLUSIONES

En primera instancia se concluye que cada una de las nuevas mezclas alimenticias evaluadas presenta altos valores de degradación ruminal debido primeramente a su considerable contenido soluble, lo que representa una opción viable para su utilización en la alimentación animal. Ahora bien los tiempos a los que se encuentra el mejor nivel de degradación se encuentran entre las 63 y 65 h para los cuatro tratamientos, sin embargo dichos niveles de degradación son estadísticamente más altos para los tratamientos 4, 2 y 1 (72.3, 70.5 y 69.2 % respectivamente) en relación al tratamiento 3 (66.6%) Además, se obtuvieron los valores de degradación a distintas tasa de paso ruminal observando mayores niveles de para la combinación de masilla y levadura a k(p) de 4, 5, 6, 7, 8 y 9 %.

Por otra parte, se puede reportar que la adición de masilla y levadura de cerveza en combinación con otros subproductos agroindustriales presentan mejores resultados en cuestiones de degradación en un sistema cerrado cuando se utilizan de forma separada contradiciendo así el efecto asociativo reportado por algunos autores, sin embargo, esta situación se invierte cuando se ajustan los resultados a un sistema continuo como lo es realmente la

digestión en el rumen. En este contexto, seleccionar o recomendar un “mejor” tratamiento dependerá de la tasa de paso de los ingredientes que complementen la dieta alimenticia. En este sentido se busca obtener un mejor tiempo de retención ruminal y así generar un mayor aprovechamiento del alimento en base a ingredientes no convencionales como son los subproductos agroindustriales.

Por último, dado que el valor nutritivo de un alimento también incluye la evaluación del consumo por parte del animal y de que la presente investigación se evaluó en un sistema cerrado, sería conveniente examinar el comportamiento productivo in vivo para proponer así resultados más completos en relación al valor nutritivo de los productos elaborados.

VI. LITERATURA CITADA

- Adesogan, A.T., Givens, D.I. and Owen, E. 1998. Prediction of the in vivo digestibility of whole crop wheat from in vitro digestibility, chemical composition, in situ rumen degradability, in vitro gas production and near infrared reflectance spectroscopy. *Animal Feed Science and Technology* 74: 59-272.
- Aguilar, R. N., M.J. Canilazes. 2005. Resíduo Lignocelulósico Cervezero. Facultad de Ciencias Biológicas y Agropecuarias Veracruzanas. ISSN. 0300-4481, N°. 168, pags. 37-41
- Aguilera, J. I., R. G. Ramírez y C. F. Arechiga. 2007. Influence of Wet Brewers Grains on Rumen Fermentation, Digestión and Performance in Growing Lambs. *Journal of Animal Veterinary Advances* 6 (5): 641-645.
- Aitchison *et al.*, 1986 Aitchison, e. M., m. Gill, m. S. Dhanoa y d. F. Osbourn. 1986. The effect of digestibility and forage species on the removal of digesta from the rumen and the voluntary intake of hay by sheep. *Brit. J. Nut.* 56: 463-476.
- Álvarez, R. J. y M. Valdivie. 1980. Energía Metabolizable y Retención de Nitrógeno en Dietas con Levadura *Torula* para Pollos de Engorde. *Rev. Cubana Cienc. Agric.* 14:55.
- Omar Araujo Febres y Juan Vergara-López Propiedades Físicas y Químicas del Rumen Arch. Latinoam. Prod. Anim. Vol. 15 (supl. 1) 2007 pp. 133. XX Reunión Alpa, XXX reunión Appa-Cusco-Perú

- Bach, a. S. Calsamiglia, and m. D. Ster. 2005. Nitrogen Metabolism in the Rumen. *J. Dairy sci.* 88: e9-e21
- Bach Alex y Calsamiglia Sergio, 2006, la fibra en los rumiantes ¿química o física? Grupo de investigación en nutrición y bienestar animal. IRTA-unidad de rumiantes. Universidad Autónoma de Barcelona.
- Bauer Dennis, Ivan Rush, y Ryck Rasby. *Minerales y Vitaminas en Bovinos de Carne. Capitulo 4.* 2009. Univ. De Nebraska, EE.UU. Extensión Educ. Univ. de Nebraska. Beef Specialist Univ. de Nebraska. Traducción y envío: Med. Vet. Alfredo del Olmo
- Belasco, Il., Gribbins, M.F. and Kolterman, D.A.: The Response of Rumen Microorganisms to Pasture Grasses and Prickly Pear Cactus Following Foliar Application of Urea. *J. nin Sci.*, 17:209- 217 (1058).
- Besong, J.A. S., C. L., Hicks, and R.W. Hemken. 1996. Effects of a Supplemental Liquid Yeast Product on Feed Intake, Ruminal Profiles, and yield, Composition, and Organoleptic Characteristics of Milk Frc Lactating Holstein cows. *J Dairy Sci* 79:1654-1668.
- Bloomfield, R. A., E. G. Komer, r. P. Wilson y m. E. Muhrer. 1966. Alkaline buffering capacity of rumen fluid. *J. Anim. Sci.* 25: 1276. Abstract
- Brock, f. m., c. w. Forsberg, and J. g. Buchanan-smith. Proteolytic activity of rumen microorganisms and effects of proteinase inhibitors. *Appl. Environ. Microbiol.* 44:561_569
- Calsamiglia, S. 2004. Tablas FEDNA de composición y valor nutritivo de forrajes y subproductos fibrosos húmedos. Fundación Española para el Desarrollo de la Nutrición Animal. Madrid, España. 42 pp.
- Campling, R.C. 1991. Processing cereal grains for cattle—a review. *Livestock Prod. Sci.* 28:223-234.
- Francisco Caravaca Rodríguez, 2003. Introducción a la Alimentación y Racionamiento Animal. Universidad de Sevilla. pp. 5-7
- Church, D. C. 1974. Fisiología digestiva y nutrición de los rumiantes. Editorial Acribia. Zaragoza, España.
- Church, D. C. y W. G. Pond. 1994. Fundamentos de nutrición y alimentación de animales. Editorial Limusa, S. A. de C. V. Grupo Noriega Editores. México. pp 438.
- Church, D.C. 1993. El Rumiante. Fisiología Digestiva y Nutrición. Ed. Acriba S.A., Zaragoza, España, pp 652.
- Clark, J. L., H. B. Hedrick and G. B. Thompson. 1976. Determination of body composition of steers by 40K. *J Anim Sci* 1976. 42:352-356.

- Cote, M. , J. R. Seoane and P. Gervais. 1983. Evaluation of rumen degradation of forage dry matter in sheep and cattle using the nylon bag technique. *Can. J. Anim. Sci.* 63:367.
- Cotta, M. A. and R. B. Hespell. 1986. Proteolytic activity of the ruminal bacterium *Butyrivibrio fibrisolvens*. *Applied and Environmental Microbiology* 52, 51-58.
- Counotte, G. H. M., a. The. Van't klooster, j. Van der kuilen. And r. A. Prins. 1979. An analysis of the buffer system in the rumen of dairy cattle. *J. Animal science*, 49:1536-1544
- Crater, A.R., P. S. Barboza, r. J. Forster. 2007. Regulation of rumen fermentation during seasonal fluctuations in food intake of muskoxen. *Comparative biochemistry and physiology, part a* 146 :233–241.
- Crickenberger, R.G., B.H. Johnson. 1982. Effect of feeding wet brewers grains to beef heifers on wintering performance, serum selenium and reproductive performance. *J. Anim. Sci.* 54:18-22. North Caroline, USA.
- Dijkstra, J., J. A. N. Mills and J. France. 2002. The role of dynamic modelling in understanding the microbial contribution to rumen function. *Nutrition Research Reviews*, 15, 67–90
- Dijkstra, J. 1994. Simulation of the dynamics of protozoa in the rumen. *Br. J. Nutr.* 72:679
- Egaña, M. J. I. Efectos de diferentes procesamientos de los granos de cereales sobre su valor nutritivo para animales rumiantes. *Tecno Vet: Año 6 N°1*, marzo 2000.
- Ehle, F.R., Martin, F. and Wheaton, J.E.: Influence of forage source and level on intake, milk production, growth hormones, rate of passage and body composition during lactation. *Can..J. Anin. Sci.*, 64 (Suppl.): 82 (1984) (Abstr.).
- Elam, c. J. Y r. E. Davis. 1962. Ruminant characteristics and bloat incidence in cattle as influenced by feeding synthetic saliva salts and sodium chloride. *J. Anim. Sci.* 21: 327-330.
- Emery, R. S., C. K. Smith, R. M. Grimes, c. F. Huffman y C. W. Duncan. 1960. Physical and chemical changes in bovine saliva and rumen liquid with different hay-grain rations. *J. Dairy sci.* 43: 76-80.
- Fischer, J. M., J. G. Buchanan-Smith, c. Campbell, d. G. Grieve y o. B. Allen. 1994. Effects of forage particle size and long hay for cows fed total mixed rations based on alfalfa and corn. *J. Dairy sci.* 77: 217-229.
- Fonty, G., and K. N Joblin. 1991. Rumen anaerobic fungi: their role and interactions with other rumen Microorganismos.

- Gaggiotti, M. 2008. XXI Curso Internacional de Lechería para Profesionales de América latina.
- García R. S., 2007 Artículo Técnico “Las Levaduras para la Alimentación de los porcinos (*Saccharomyces Cerevisiae*)” Engormix, México.
- Garciarena, A.C., C.C. Hofer, A.R. Monje, M. Gómez. 1992. Efecto de la suplementación con malta húmeda sobre el ambiente ruminal y la dinámica de digestión. INTA. Concepción, Uruguay.
- Garman, C. L., L. A. Holden and H. A. Kane. 1997. Comparison of invitro dry matter digestibility of nine feedstuffs using three methods of analysis. Dairy Sci., 80:260 suppl. 1.
- Giger-Reverdin, S., C. Duvaux-Ponter, D. Sauvant, O. Martin, I. N. Do prado, R. Muller. 2002. Intrinsic buffer capacity of feedstuffs. Anim. Feed sci. Techn. 96:83-102.
- Luis a giraldo¹, Zoot. MS; Lina a Gutiérrez, bact; Claudia Rúa. 2007. Comparación de dos técnicas *in vitro* e *in situ* para estimar la digestibilidad verdadera en varios forrajes tropicales bact. Universidad Nacional de Colombia sede Medellín. Medellín, Colombia. Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia.
- Goering, H. K., and P. J. Van Soest. 1970. Forage fiber analyses (apparatus, reagents, procedures, and some applications). Agric. Handbook N° 379. ARS, USDA, Washington, D. C
- González, D., Ruiz, M. E., Romero, F.1990 Recomendaciones sobre la utilización de los métodos *in vitro*, *in situ* y enzimático en el estudio de la digestión de alimentos In: Ruiz, M. E., Ruiz, A. Nutrición de rumiantes: guía metodológica de investigación. 1990. p.127-140.
- Grasser, L. A., J.G. Fadel, I. Garnett y E. J. De Peters. 1995. Quantity and economic of nine selected byproducts used in California dairy rations. J. Dairy
- Greathead H. Plants and plant extracts for improving animal productivity. 2003. *Proc. Nutr. Soc.* 62:279–290.
- Grudsky P. R. y J. L. Arias B. 1983. Aspectos generales de la microbiología del rumen. Mon grafías de Medicina Veterinaria, 5(2).
- Guerrero, Rodríguez Alberto 2012. Metabolismo Microbiano Ruminal. Doctorado UAAAN Saltillo Coahuila, Marzo de 2012.
- Guerrero, R. A. 2009. Utilización de masilla y/o levadura de cervecería en la alimentación de toretes charolais. Tesis Maestría, UAAAN, México, pp. 102

- Guerrero, R. P. 2011. Efecto de la adición de un producto peletizado elaborado a base de subproductos agroindustriales sobre los coeficientes de digestibilidad, parámetros energéticos y balance de nitrógeno en ovinos. Tesis Lic. UAAAN. México. pp. 114
- Hatch, C. F., T. W. Perry, M. T. Mohler and W. M. Beeson, 1972. Effect of corn distillers solubles and brewers dried grains with yeast in urea-containing rations on steer performance. *J. Anim. Sci.* 34: 326. USA.
- Hobson, P.N. 1988. The rumen microbial ecosystem. Elsevier science publishers ltd. Essex, England.
- Julier, B., Lila, M., Furstoss, V., Travers, V. and Huyghe, C. (1999). Measurement of cell-wall digestibility in lucerne using the filter bag technique. *Anim. Feed Sci. Technol.*, 79: 239-245.
- Kaiser, D. Y J. H. Weniger. 1994. In vivo and in vitro studies on nutrient digestibility and heat production of ruminants under heat stress and at different nutrient supply. 4. In vitro studies-background, experimental design, gas production in relation to incubation temperature, energy content of incubated feeds. *Archiv fur tierzucht.* 37(4): 385-399.
- Kamande G.M. 2006. Digestion ruminal y nutrición. Congreso de Forrajes. Producir XXI, Bs. As., 15(180):52-57.
- Kayouli, C., & Lee, S. 1998. Supplementary feeding for dairy smallholders in Pacific Island Countries: Fiji, Samoa, Vanuatu, Cook Islands, Solomon Islands and Tonga. p. 67-101, *in*: S. Lee, R. Kennard & C. Kayouli (eds) Manual of Smallholder Milk Production in the South Pacific. FAO Sub-Regional Office for the Pacific, Apia, Samoa.
- Kempton, T. J., 1980. El uso de la bolsa de nylon para caracterizar el potencial de degradabilidad de alimentos para el rumiante. *Production Animal Tropical* 5:115-126.
- Kopečný, J and R. J Wallace. 1982. Cellular location and properties of proteolytic enzymes of rumen bacteria. *Appl. Environ. Microbiol.* 43: 1026-1033.
- Krause, K. M., and G. R. Oetzel. 2006. Understanding and preventing subacute ruminal acidosis in dairy 140 • *arch. Latinoam. Prod. Anim.* Vol. 15 (supl. 1) 2007 herds: a review. *Animal feed science and technology* 126: 215–236.
- Krause, V. E. 1973. Dehydrated alfalfa as a protein source in ruminant rations. Ph.D. Dissertation. University of Nebraska, Lincoln.
- Lara, S.R. 1976. Cuatro niveles de residuo de cervecería (masilla) en la engorda de becerros Holstein. Tesis Licenciatura. Facultad de Agronomía – UANL. Marín, Nuevo León. pp. 9-13, 21-33.

- Llamas, L. G. y I. Tejada, 1990. Técnicas de Laboratorio para el Análisis de Forrajes para Rumiantes. Manual de Técnicas de Investigación en Rumiología, Sistema de Educación Continua en Producción Animal en México. Ed. Consultores en Producción Animal 1er. Edición., México p38.
- José Maiztegui, 2008. Los alimentos. MV, MSc Facultad de Ciencias Veterinarias. Universidad Nacional del Litoral. PP.: 3-6
- Manríquez H. Juan Antonio La Digestibilidad Como Criterio De Evaluación De Alimentos - Su Aplicación En Peces Y En La Conservación Del Medio Ambiente
- McAllister T. A., R. C. Phillippe, L. M. Rode y K. J. Chemg.1993. Effect of the Protein Matrix on the Digestion of Cereal Grains by Ruminal Microorganism. J. Animal. Sci.71:205.
- McSweeney, C.S., Palmer, B., McNeill, D.M., Bunch, R. & Krause, D.O. 2001. Microbial interactions with tannins: nutritional consequences for ruminants. Anim. Feed Sci. Tech. 91: 83
- Mehrez, A. Z. and E. R. Orskov. 1978 Protein, degradation and optimum urea concentration in cereal based diets for sheep British Journal of Nutrition In-.press
- Mehrez, A. Z. and E. R. Orzkov, 1977. A study of the artificial fibre gab technique for determining the digestibility of feeds in the rumen. J. Agric. Science., Camb. 88:645 -650.
- Merchen, N. 2000: Manipulation of amino acid supply to the growing ruminant. J. Anim. Sci. 70:3238-3247. Current perspective on assessing site of digestion in ruminants. J. Anim.
- Mertens DR, 1980. Loften JR. The effect of starch on forage fiber digestion kinetics in vitro. J Dairy Sci 2000; 63:1437-1446.
- Miazzo, R.D. and S.Kraft. 1998. Yeast growth promoter for broilers. 10th European Poultry Conference. Rev. Arg. Prod. Animal 18 (Supl. 1):20-21, 1998.
- Min, B.R., Barry, T.N., Attwood, G.T. & McNabb, W.C. 2003. The effect of condensed tannins on the nutrition and health of ruminants fed fresh temperate forages: a review. Anim. Feed Sci. Tech. 106: 3
- Minson, J.D. 1982 Effect of chemical composition on feed digestibility and metabolizable energy. Nutr. Abstr. Rev. series B. 52:591-615.
- Monje A.R., A.D. Garciarena y C.C. Hofer. 1992. Engorde a corral de novillos y novillitos con raciones de alto contenido de malta húmeda. 4§ Seminario

"Del potrero a la góndola". Carnes y lácteos. Producción Animal & Agromarketing.

Nocek, J.E.: Characterization of in situ dry matter and nitrogen of varios corn grain f0rms.J. Daily Sci., 70: 2291-2301 (1987).

Nocek, J.E. and Grant, A.L. 1987. Characterization of in situ nitrogen and fiber digestion and bacteria1 nitrogen contamination of hay crop forages preserved at different dry matter percentages. J. Anim. S&., 64: 552-564 .

Nocek, J.E. & Russell, J.B. 1988. Protein and energy as an integrated system. Relationship of ruminal protein and carbohydrate availability to microbial synthesis and milk production. J. Dairy Sci. 71:2070

Nolan, J.V. & Dobos, R.C. 2005. Nitrogen transactions in ruminants. En: quantitative aspects of ruminant digestion and metabolism. 2nd edition. Cab international. Wallingford, uk. P. 137

NRC. 2001. Nutrient Requeriments of dairy cattle: (7th Revised Edn.) pp17.

Ocampo, M.C. 2012. Evaluación de la degradación *in vitro* de subproductos de cervecería (masilla y levadura). Tesis Lic. UAAAN. México. pp 46.

Ørskov, E. R. 1994. Recent advances in understanding of microbial transformation in ruminants. Livestock production science. 39: 53-60.

Ørskov, E.R. 1992. Protein nutrition in ruminants. 2nd edition. Academic press. New York, Eua

Orskov, E.R. and McDonald, 1. The estimation of protein degradability in the rumen from incubation measurements weighed according to rate of passage. J. Agric. Sci., 92: 499-503 (1979).

Orskov, E. R., B. D. Hovell y F. Moud. 1980. Uso de la técnica de la bolsa de nylon para la evaluación de los alimentos. Producción Animal Tropical. 5:213.

Owens, F. N. y A. L. Goetsch. 1988. Fermentación ruminal. En: El rumiante, fisiología digestiva y nutrición. C. D. Church (Ed.). Editorial Acribia, S. A.

Owens, F. y R. Zinn. 1988. Metabolismo de las proteínas en los rumiantes. *En*: D. C. Church (Editor): El Rumiante: Fisiología Digestiva y Nutrición, Ed. Acribia S.A., pp. 255-281.

Palma JM y Díaz M. Influencia de la altura de *Leucaena leucocephala* sobre los hábitos de pastoreo en ovinos. Establecimiento de árboles y arbustos forrajeros. En: II Reunión Nacional sobre Sistemas Agro-Silvopastoriles. Villahermosa, Tab. 20 – 22 junio de 2001. México. 2001.

- Perdomo, M., R.Vargas, y G. Campos. 2004. Valor nutritivo de la levadura de cerveza (*Saaccharomyces cerevisiae*) y sus derivados, extracto y pared celular, en la alimentación animal. Arch. Latinoam. Prod. Anim. 12 (3): 89-95.
- Phillipson, A. T. 1981. Digestion en el ruminante. En: fisiología de los animales domesticos. H.H. Dukes y M. J. Swenson (Eds.). Aguilar editor S. A. Mexico .
- Playne, MJ.,Khumnualthong, W. and Echevarria, M.G.: Factors affectig the digestion of oesophageal fistula samples and hay samples in nylon bags in the rumen of cattle. J. Agric. Sci., 90: 193-204 (1978)
- Preston R L, Vance R D and Cahill V R 1973 Energy evaluation of brewers' grains for growing and finishing cattle. Journal of Animal Science 37: 194-178.
- Quin, J.I. Watch van der, J.G. and Myburgh, S. 1938. Studies on the alimentary tract of Merino sheep in South Africa.4. Description of experimental technique. Onderstepoort J. vet. Sci. Anim. Ind., 11:341-360.
- Reinold, M. R. 1997. Manual práctico de cerveza. Aden Ed. Sao Pablo, Brazil, pp: 123.
- Relling, Alejandro Enrique y Mattioli, Guillermo Alberto, 2002. Fisiología digestiva y metabólica de los rumiantes Cátedra de Fisiología Facultad de Ciencias Veterinarias U.N.L.P. pp: 34-44: 53-60
- Relling, A. E., y A. G. Mattioli. 2003. Fisiología digestiva y metabólica de los rumiantes. De "Fisiología Digestiva y Metabólica de los Rumiantes. Ed. Facultas de Ciencias Veterinarias. Universidad Nacional de la Plata. pp: 1-72.
- Rodriguez, H., 1968 The in vivo Bag Technique in Digestibility Studies. Revista Cubana de Ciencia Agrícola (English Edition) 2:77-81
- Rodríguez, C. A., y E. Valencia. 2008. Microbiología Ruminal. Estación Experimental Agrícola. Departamento de Agricultura Universidad de Puerto Rico. Vol :3, No 1, 2008
- 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, 2007, pp. 303-311 Instituto de Ciencia Animal. La Habana, Cuba
- Rodríguez C. A., y E. Valencia. 2008. Microbiología Ruminal. Estación Experimental Agrícola. Departamento de Agricultura Universidad de Puerto Rico. Vol :3, No 1, 2008.

- Rotger, C. A. 2004. Fermentación Ruminal, Degradación Proteica y Sincronización Energía-Proteína en Terneras en Cebo Intensivo. Departamento de Ciencia Animal. Universidad Autónoma de Barcelona. 36-45 pp.
- Digestión y absorción de compuestos nitrogenados. En: r. Ruiz *et al.* (eds.) Bioquímica nutricional: fisiología digestiva y metabolismo intermediario en animales de granja. Ed. Edica. Instituto de ciencia animal. La habana, cuba. P. 189
- Satter, L. D., y L. L. Slyter. 1974. Effect on ammonia concentration on rumen microbial protein production in vitro. *Br. J. Nutr.* 32:199-208
- Satter, L. D. and L. W. Whitlow. 1977. Resistance of protein in brewers dried grains to microbial degradation in the rumen. *U.S. Brewers Assoc. Feed Conf. Proc. Distillers Feed Res. Conf.* 32, 63-72.
- Scollan, N. D., Choi, N.J., Kurt, E., Fisher, A.V., Enser, M. and Wood, J.D. 2001. Manipulating fatty acid composition of muscle and adipose tissue in beef cattle *British Journal of Nutrition* 85: 115-124.
- Sniffen, C. J., O'Connor J. D., Van Soest P. J., Fox D. G. and Russell J. B. 1992. A net carbohydrate and protein availability (CNCPS). *J. Animal. Sci.* 70:3562-3577.
- Singh, B., Makkar, H.P.S., Negi, S.S. 1992 The kinetics of digestion in ruminants. A review. *Indian J. Dairy Sci.* 46,3:90-99.
- Solaiman, S.G., Marty, F.A., Belyea, R.L. and Weiss, M.F.: Effect of diet composition and forage particle size on cell wall digestion rates of alfalfa and orchard grass in situ. *J. Daily Sci.*, 65 (Suppl.1): 144 (1982) (Abstr.).
- Stensig, T., M. R. Weisbjerg, J. Madsen and T. Hvelplund. 1994. Estimation of voluntary feed intake from in sacco degradation and rate of passage of DM or NDF. *Livestock Production Science* 39:49-52.
- Stone, C. 1998. Yeast products in the feed industry. Ed. By Mills, D. Inc. Cedar Rapids, Iowa., p 10-11.
- Swenson, M. J. y W. Reece. 1999. Fisiología de los Animales Domésticos de Dukes. 5ta edición. LIMUSA, UTHEA. México
- Tajimaa, K., I. Nonaka, K. Higuchi, N. Takusari, M. Kurihara, A. Takenaka, M. Mitsumori, H. Kajikawa, R. I. Aminov. 2007. Influence of high temperature and humidity on rumen bacterial diversity in Holstein heifers. *Anaerobe*, 13: 57-64.
- Tamminga, s. 1979. Protein degradation in the forestomachs of ruminants. *J. Anim. Sci.* 49:1615-1630.
- Tilley, J. M. A. and R. A. Terry. 1963. A two stage technique for the in vitro digestion of forage crops. *British Grassland society* 18:104-111.

- Uden, P., R. Parra y P. J. Van Soest, 1974. Factors Influencing Reliability of the Nylon Bag Technique. *J. Dairy Sci.* 57:622
- Uden, P. y P. J. Van Soest, 1984. Investigation of in situ Bag Technique and a Comparison of the Fermentation in heifers, sheep, ponies and rabbits. *J. Animal Sci.* 58:213
- Underwood, E. J. 1984. In: Present Knowledge in Nutrition, 5th Ed. P. 528. The Nutrition Foundation, Inc., Washington, D.C.
- Van Keulen, J. and B. A. Young. "Evaluation of acid-insoluble ash as a natural marker in ruminant digestibility studies". *J. Anim. Sci.* 44:282-287, 1977
- Van Hellen, R.W. and Ellis, W.C.: Sample contain porosities for rumen *in situ* studies. *J. anim. Sci.*, 44:141-146 (1977)
- Van Keuren, R. W. and W. W. Heinemann, 1962. Study of a nylon bag technique for in vivo stimulation of forage digestibility. *J. Anim. Sci.* 14:111-117.
- Van Lier elize, y Mariel Regueiro, 2008. Digestión en Retículo-Rumen. Departamento de Producción Animal y Pasturas. Curso de Anatomía y Fisiología. Facultad de Agronomía. Universidad de la Republica. Montevideo Uruguay. PP. 23, 27, 28.
- Van Soest, P. J. , 1983. Nutritional Ecology of the Ruminant. 1ed. Corvallis, Oregon, EE.UU., O & B Books. P 374.
- Van Soest, P. J. 1994. Nutritional Ecology of the Ruminant. Comstock, Cornell University Press. 2nd Edition. P.373.
- Van Straalen W.M. and S. Tamminga. 1990. Pages 55-72 in Protein degradation of ruminant diets. Wiseman J., Cole D.J.A. (Eds), Feedstuff evaluation, Butterworth.
- Varela, G. y G. Grotiuz. 2006. Fisiología y Metabolismo Bacteriano. En: Temas de Bacteriología y Virología Médica. 2^a edición. FEFMUR. ISBN 9974-31-194-2. pp 447.
- Varvikko, T. and Lindberg J.E.: Estimation of microbial nitrogen in nylon-bag residues by feed 15^N dilution. *Br. J Nutr.*, 54: 473-481 (1985).
- Velasco AO, Melgarejo VL y Velasco NF. Conversión alimenticia, ganancia de peso y rendimiento en canal de novillos alimentados con diferente proporción de fruto de parota (*Enterolobium cyclocarpum*). En AMMVEB eds. Memorias del XX Congreso Nacional de Buiatría. Acapulco, Gro. 14-17- de agosto. México. , 1996.
- Vogel J, Borner T and Hess W (1999) Comparative analysis of splicing of the complete set of chloroplast group II introns in three higher plants mutants. *Nucleic Acids Res*, 27, 3866–3874.

- Wallace, R.J., Onodera, R. & Cotta, M.A. 1997. Metabolism of nitrogen-containing compounds. Eds. P.n. Hobson and c.s. Stewart. The rumen microbial ecosystem. 2nd ed. Eds. Chapman & hall. London. P. 283
- Wallace, R.J., and C. A. Munro. 1986. Influence of the rumen anaerobic fungus *Neocallimastix frontalis* on the proteolytic activity of a defined mixture of rumen bacteria growing on a solid substrate. Lett. Appl. Microbiol. 3:23-26.
- Wallace, R.J. 1985. Absorption of soluble proteins to rumen bacteria and the rate of absorption in proteolysis. Br. J.nut. 53: 399-408
- Wallace, R. y C. McPherson. 1987. Factors affecting the rate of breakdown of bacterial protein in rumen fluid. Br. J. Nutr. 58: 313–323.
- Wallace, R.J., and K. N. Joblin. 1985. Proteolytic activity of a rumen anaerobic fungus. FEMS Microbiol. Lett. 29:1925.
- Wallace, R. J. 1991. Rumen proteolysis and its control. In: Rumen microbial metabolism and ruminant digestion. J.P. Jouany, edt. INRA. pp. 132-150.
- Wang, Y., T. A. McAllister, L. M. Rode, K. A. Beauchemin, D. P. Morgavi, V. L. Nsereko, A. D. Iwaasa, and W. Yang. 2001. Effects of an exogenous enzyme preparation on microbial protein synthesis, enzyme activity and attachment to feed in the rumen simulation technique (Rusitec). Br. J. Nutr. 85:325–332.
- Wattiaux, A.M. Metabolismo de lipidos en vacas lecheras. 2005. Instituto Babcock para la Investigación y Desarrollo Internacional de la Industria Lechera. Universidad de Wisconsin-Madison
- Weasley, D. C., M. D. Stern y L. D. Satter, 1983. Factors affecting disappearance of feedstuffs from bags suspended in the rumen. J. Anim. Sci. 56:493.
- Weakley, D.C., Stern, M.D. and Satter, L.D.: Factors affecting disappearance of feedstuffs from bags suspended in the rumen. J. Anim. Sci., 56: 493-507 (1983).
- Westendorf, M.L. and J. E. Wohlt,. 2002. Brewing byproducts: their use as animal feeds. Vnim. Practice., 18: 233-252.
- Wilman, D. and Adesogan, A. 2000. A comparison of filter bag methods with conventional tube methods of determining the in vitro digestibility of forages. Animal Feed Science and Technology, 84: 33-47
- Yokoyama, M. T. y K. A. Johnson. 1988. Microbiología del rumen e intestino. En: El rumiante. Fisiología digestiva y nutrición. C. D. Church (Ed.). Editorial Acribia.

ANEXO

Análisis de regresión polinomial: DIV (%) vs. Tiempo (h)

La ecuación de regresión es

$$\text{DIV (\%)} = 41.63 + 0.9050 \text{ Tiempo (h)} - 0.007270 \text{ Tiempo (h)**2}$$

$$S = 7.46109 \quad R\text{-cuad.} = 76.8\%$$

Análisis de varianza

| Fuente | GL | SC | CM | F | P |
|-----------|----|---------|---------|-------|-------|
| Regresión | 2 | 2011.61 | 1005.80 | 18.07 | 0.000 |
| Error | 18 | 1002.02 | 55.67 | | |
| Total | 20 | 3013.63 | | | |

Análisis de varianza secuencial

| Fuente | GL | SC | F | P |
|------------|----|---------|-------|-------|
| Lineal | 1 | 1235.36 | 13.20 | 0.002 |
| Cuadrática | 1 | 776.24 | 13.94 | 0.002 |

Análisis de regresión polinomial: DIV (%) vs. Tiempo (h)

La ecuación de regresión es

$$\text{DIV (\%)} = 41.95 + 0.8818 \text{ Tiempo (h)} - 0.006797 \text{ Tiempo (h)**2}$$

$$S = 7.52931 \quad R\text{-cuad.} = 77.8\%$$

Análisis de varianza

| Fuente | GL | SC | CM | F | P |
|-----------|----|---------|---------|-------|-------|
| Regresión | 2 | 2151.80 | 1075.90 | 18.98 | 0.000 |

| | | | |
|-------|----|---------|-------|
| Error | 18 | 1020.43 | 56.69 |
| Total | 20 | 3172.23 | |

Análisis de varianza secuencial

| Fuente | GL | SC | F | P |
|------------|----|---------|-------|-------|
| Lineal | 1 | 1473.39 | 16.48 | 0.001 |
| Cuadrática | 1 | 678.42 | 11.97 | 0.003 |

Análisis de regresión polinomial: DIV (%) vs. Tiempo (h)

La ecuación de regresión es

$$\text{DIV (\%)} = 42.71 + 0.7382 \text{ Tiempo (h)} - 0.005691 \text{ Tiempo (h)}^{**2}$$

$$S = 7.86162 \quad R\text{-cuad.} = 67.5\%$$

Análisis de varianza

| Fuente | GL | SC | CM | F | P |
|-----------|----|---------|---------|-------|-------|
| Regresión | 2 | 1507.13 | 753.565 | 12.19 | 0.000 |
| Error | 18 | 1112.49 | 61.805 | | |
| Total | 20 | 2619.62 | | | |

Análisis de varianza secuencial

| Fuente | GL | SC | F | P |
|------------|----|---------|-------|-------|
| Lineal | 1 | 1031.46 | 12.34 | 0.002 |
| Cuadrática | 1 | 475.67 | 7.70 | 0.013 |

Análisis de regresión polinomial: DIV (%) vs. Tiempo (h)

La ecuación de regresión es

$$\text{DIV (\%)} = 39.60 + 1.057 \text{ Tiempo (h)} - 0.008530 \text{ Tiempo (h)}^{**2}$$

$$S = 8.86428 \quad R\text{-cuad.} = 75.7\%$$

Análisis de varianza

| Fuente | GL | SC | CM | F | P |
|-----------|----|---------|---------|-------|-------|
| Regresión | 2 | 2709.05 | 1354.53 | 17.24 | 0.000 |
| Error | 18 | 1414.36 | 78.58 | | |
| Total | 20 | 4123.41 | | | |

Análisis de varianza secuencial

| Fuente | GL | SC | F | P |
|------------|----|---------|-------|-------|
| Lineal | 1 | 1640.46 | 12.55 | 0.002 |
| Cuadrática | 1 | 1068.60 | 13.60 | 0.002 |

ANVA TIEMPO 0

Modelo lineal general: DIV (%) vs. T

| Factor | Tipo | Niveles | Valores |
|--------|------|---------|------------|
| T | fijo | 4 | 1, 2, 3, 4 |

Análisis de varianza para DIV (%), utilizando SC ajustada para pruebas

| Fuente | GL | SC | Sec. | SC Ajust. | CM Ajust. | F | P |
|--------|----|----|--------|-----------|-----------|------|-------|
| T | 3 | | 69.21 | 69.21 | 23.07 | 0.95 | 0.462 |
| Error | 8 | | 194.60 | 194.60 | 24.33 | | |
| Total | 11 | | 263.81 | | | | |

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

| T | N | Media | Agrupación |
|---|---|-------|------------|
| 3 | 3 | 32.2 | A |
| 1 | 3 | 30.8 | A |
| 2 | 3 | 30.5 | A |
| 4 | 3 | 25.9 | A |

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.

ANVA TIEMPO 6

Modelo lineal general: DIV (%) vs. T

| Factor | Tipo | Niveles | Valores |
|--------|------|---------|------------|
| T | fijo | 4 | 1, 2, 3, 4 |

Análisis de varianza para DIV (%), utilizando SC ajustada para pruebas

| Fuente | GL | SC | Sec. | SC Ajust. | CM Ajust. | F | P |
|--------|----|----|--------|-----------|-----------|------|-------|
| T | 3 | | 26.04 | 26.04 | 8.68 | 0.44 | 0.729 |
| Error | 8 | | 156.76 | 156.76 | 19.60 | | |
| Total | 11 | | 182.80 | | | | |

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

| T | N | Media | Agrupación |
|---|---|-------|------------|
| 3 | 3 | 52.9 | A |
| 2 | 3 | 52.4 | A |
| 4 | 3 | 50.1 | A |
| 1 | 3 | 49.4 | A |

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.

ANVA TIEMPO 12

Modelo lineal general: DIV (h) vs. T

| Factor | Tipo | Niveles | Valores |
|--------|------|---------|------------|
| T | fijo | 4 | 1, 2, 3, 4 |

Análisis de varianza para DIV (h), utilizando SC ajustada para pruebas

| Fuente | GL | SC | Sec. | SC Ajust. | CM Ajust. | F | P |
|--------|----|----|--------|-----------|-----------|------|-------|
| T | 3 | | 51.570 | 51.570 | 17.190 | 7.07 | 0.012 |
| Error | 8 | | 19.439 | 19.439 | 2.430 | | |
| Total | 11 | | 71.008 | | | | |

S = 1.55879 R-cuad. = 72.62%

Observaciones inusuales de DIV (h)

| Obs | DIV (h) | Ajuste | EE de ajuste | Residuo | Residuo estándar |
|-----|---------|---------|--------------|---------|------------------|
| 7 | 53.6977 | 57.0559 | 0.9000 | -3.3583 | -2.64 R |

R denota una observación con un residuo estandarizado grande.

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

| T | N | Media | Agrupación |
|---|---|-------|------------|
| 4 | 3 | 62.7 | A |
| 1 | 3 | 61.2 | A |
| 2 | 3 | 60.3 | A B |
| 3 | 3 | 57.1 | B |

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes

ANVA TIEMPO 24

Modelo lineal general: DIV (h) vs. T

| Factor | Tipo | Niveles | Valores |
|--------|------|---------|------------|
| T | fijo | 4 | 1, 2, 3, 4 |

Análisis de varianza para DIV (h), utilizando SC ajustada para pruebas

| Fuente | GL | SC Sec. | SC Ajust. | CM Ajust. | F | P |
|--------|----|---------|-----------|-----------|------|-------|
| T | 3 | 41.32 | 41.32 | 13.77 | 0.45 | 0.727 |
| Error | 8 | 247.45 | 247.45 | 30.93 | | |
| Total | 11 | 288.77 | | | | |

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

| T | N | Media | Agrupación |
|---|---|-------|------------|
| 4 | 3 | 64.6 | A |
| 1 | 3 | 63.5 | A |
| 2 | 3 | 61.2 | A |
| 3 | 3 | 59.9 | A |

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.

ANVA TIEMPO 48

Modelo lineal general: DIV (h) vs. T

| Factor | Tipo | Niveles | Valores |
|--------|------|---------|------------|
| T | fijo | 4 | 1, 2, 3, 4 |

Análisis de varianza para DIV (h), utilizando SC ajustada para pruebas

| Fuente | GL | SC Sec. | SC Ajust. | CM Ajust. | F | P |
|--------|----|---------|-----------|-----------|------|-------|
| T | 3 | 35.692 | 35.692 | 11.897 | 3.32 | 0.078 |
| Error | 8 | 28.652 | 28.652 | 3.582 | | |
| Total | 11 | 64.345 | | | | |

S = 1.89249 R-cuad. = 75.47%

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

| T | N | Media | Agrupación |
|---|---|-------|------------|
| 4 | 3 | 65.3 | A |
| 2 | 3 | 65.1 | A |
| 1 | 3 | 63.6 | A |
| 3 | 3 | 61.0 | A |

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes

ANVA TIEMPO 72

Modelo lineal general: DIV (h) vs. T

| Factor | Tipo | Niveles | Valores |
|--------|------|---------|------------|
| T | fijo | 4 | 1, 2, 3, 4 |

Análisis de varianza para DIV (h), utilizando SC ajustada para pruebas

| Fuente | GL | SC Sec. | SC Ajust. | CM Ajust. | F | P |
|--------|----|---------|-----------|-----------|------|-------|
| T | 3 | 14.293 | 14.293 | 4.764 | 1.07 | 0.414 |
| Error | 8 | 35.594 | 35.594 | 4.449 | | |
| Total | 11 | 49.887 | | | | |

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

| T | N | Media | Agrupación |
|---|---|-------|------------|
| 2 | 3 | 66.1 | A |
| 4 | 3 | 65.9 | A |
| 1 | 3 | 64.5 | A |
| 3 | 3 | 63.4 | A |

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.

ANVA TIEMPO 96

Modelo lineal general: DIV (h) vs. T

| Factor | Tipo | Niveles | Valores |
|--------|------|---------|------------|
| T | fijo | 4 | 1, 2, 3, 4 |

Análisis de varianza para DIV (h), utilizando SC ajustada para pruebas

| Fuente | GL | SC Sec. | SC Ajust. | CM Ajust. | F | P |
|--------|----|---------|-----------|-----------|------|-------|
| T | 3 | 21.77 | 21.77 | 7.26 | 0.37 | 0.778 |
| Error | 8 | 157.59 | 157.59 | 19.70 | | |
| Total | 11 | 179.36 | | | | |

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

| T | N | Media | Agrupación |
|---|---|-------|------------|
| 2 | 3 | 66.9 | A |
| 4 | 3 | 66.5 | A |
| 1 | 3 | 64.9 | A |
| 3 | 3 | 63.5 | A |

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.

ANÁLISIS TASAS DE FLUJO RUMINAL

Bienvenido a Minitab, presione F1 para obtener ayuda.

Modelo lineal general: 0.01 vs. T

| Factor | Tipo | Niveles | Valores |
|--------|------|---------|------------|
| T | fijo | 4 | 1, 2, 3, 4 |

Análisis de varianza para 0.01, utilizando SC ajustada para pruebas

| Fuente | GL | SC Sec. | SC Ajust. | CM Ajust. | F | P |
|--------|----|---------|-----------|-----------|---|---|
|--------|----|---------|-----------|-----------|---|---|

| | | | | | | |
|-------|----|---------|--------|--------|------|-------|
| T | 3 | 5.2200 | 5.2200 | 1.7400 | 2.12 | 0.176 |
| Error | 8 | 6.5600 | 6.5600 | 0.8200 | | |
| Total | 11 | 11.7800 | | | | |

S = 0.905539 R-cuad. = 44.31% R-cuad.(ajustado) = 23.43%

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

| T | N | Media | Agrupación |
|---|---|-------|------------|
| 4 | 3 | 60.4 | A |
| 2 | 3 | 59.5 | A |
| 1 | 3 | 59.1 | A |
| 3 | 3 | 58.6 | A |

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.

Modelo lineal general: 0.02 vs. T

| Factor | Tipo | Niveles | Valores |
|--------|------|---------|------------|
| T | fijo | 4 | 1, 2, 3, 4 |

Análisis de varianza para 0.02, utilizando SC ajustada para pruebas

| Fuente | GL | SC Sec. | SC Ajust. | CM Ajust. | F | P |
|--------|----|---------|-----------|-----------|------|-------|
| T | 3 | 1.2400 | 1.2400 | 0.4133 | 1.24 | 0.357 |
| Error | 8 | 2.6667 | 2.6667 | 0.3333 | | |
| Total | 11 | 3.9067 | | | | |

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

| T | N | Media | Agrupación |
|---|---|-------|------------|
| 4 | 3 | 58.2 | A |
| 2 | 3 | 58.0 | A |
| 3 | 3 | 57.8 | A |
| 1 | 3 | 57.3 | A |

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.

Modelo lineal general: 0.03 vs. T

| Factor | Tipo | Niveles | Valores |
|--------|------|---------|------------|
| T | fijo | 4 | 1, 2, 3, 4 |

Análisis de varianza para 0.03, utilizando SC ajustada para pruebas

| Fuente | GL | SC Sec. | SC Ajust. | CM Ajust. | F | P |
|--------|----|---------|-----------|-----------|------|-------|
| T | 3 | 2.8425 | 2.8425 | 0.9475 | 2.43 | 0.140 |
| Error | 8 | 3.1200 | 3.1200 | 0.3900 | | |
| Total | 11 | 5.9625 | | | | |

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

| T | N | Media | Agrupación |
|---|---|-------|------------|
| 3 | 3 | 57.2 | A |
| 2 | 3 | 56.6 | A |
| 4 | 3 | 56.2 | A |
| 1 | 3 | 55.9 | A |

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.

Modelo lineal general: 0.04 vs. T

Factor Tipo Niveles Valores
T fijo 4 1, 2, 3, 4

Análisis de varianza para 0.04, utilizando SC ajustada para pruebas

| Fuente | GL | SC Sec. | SC Ajust. | CM Ajust. | F | P |
|--------|----|---------|-----------|-----------|-------|-------|
| T | 3 | 10.6200 | 10.6200 | 3.5400 | 60.69 | 0.000 |
| Error | 8 | 0.4667 | 0.4667 | 0.0583 | | |
| Total | 11 | 11.0867 | | | | |

S = 0.241523 R-cuad. = 95.79% R-cuad.(ajustado) = 94.21%

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

| T | N | Media | Agrupación |
|---|---|-------|------------|
| 3 | 3 | 56.6 | A |
| 2 | 3 | 55.3 | B |
| 1 | 3 | 54.4 | C |
| 4 | 3 | 54.2 | C |

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.

Modelo lineal general: 0.05 vs. T

Factor Tipo Niveles Valores
T fijo 4 1, 2, 3, 4

Análisis de varianza para 0.05, utilizando SC ajustada para pruebas

| Fuente | GL | SC Sec. | SC Ajust. | CM Ajust. | F | P |
|--------|----|---------|-----------|-----------|-------|-------|
| T | 3 | 11.6700 | 11.6700 | 3.8900 | 11.04 | 0.003 |
| Error | 8 | 2.8200 | 2.8200 | 0.3525 | | |
| Total | 11 | 14.4900 | | | | |

S = 0.593717 R-cuad. = 80.54% R-cuad.(ajustado) = 73.24%

Observaciones inusuales de 0.05

| Obs | 0.05 | Ajuste | EE de ajuste | Residuo | Residuo estándar |
|-----|---------|---------|--------------|---------|------------------|
| 8 | 54.0000 | 55.0000 | 0.3428 | -1.0000 | -2.06 R |
| 9 | 56.0000 | 55.0000 | 0.3428 | 1.0000 | 2.06 R |

R denota una observación con un residuo estandarizado grande.

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

| T | N | Media | Agrupación |
|---|---|-------|------------|
| 3 | 3 | 55.0 | A |
| 2 | 3 | 54.1 | A B |
| 1 | 3 | 53.1 | B C |
| 4 | 3 | 52.4 | C |

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.

Modelo lineal general: 0.06 vs. T

| Factor | Tipo | Niveles | Valores |
|--------|------|---------|------------|
| T | fijo | 4 | 1, 2, 3, 4 |

Análisis de varianza para 0.06, utilizando SC ajustada para pruebas

| Fuente | GL | SC Sec. | SC Ajust. | CM Ajust. | F | P |
|--------|----|---------|-----------|-----------|-------|-------|
| T | 3 | 38.062 | 38.062 | 12.687 | 28.67 | 0.000 |
| Error | 8 | 3.540 | 3.540 | 0.443 | | |
| Total | 11 | 41.602 | | | | |

S = 0.665207 R-cuad. = 91.49% R-cuad.(ajustado) = 88.30%

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

| T | N | Media | Agrupación |
|---|---|-------|------------|
| 3 | 3 | 55.5 | A |
| 2 | 3 | 52.9 | B |
| 1 | 3 | 51.8 | B C |
| 4 | 3 | 50.7 | C |

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.

Modelo lineal general: 0.07 vs. T

| Factor | Tipo | Niveles | Valores |
|--------|------|---------|------------|
| T | fijo | 4 | 1, 2, 3, 4 |

Análisis de varianza para 0.07, utilizando SC ajustada para pruebas

| Fuente | GL | SC Sec. | SC Ajust. | CM Ajust. | F | P |
|--------|----|---------|-----------|-----------|--------|-------|
| T | 3 | 58.590 | 58.590 | 19.530 | 279.00 | 0.000 |
| Error | 8 | 0.560 | 0.560 | 0.070 | | |
| Total | 11 | 59.150 | | | | |

S = 0.264575 R-cuad. = 99.05% R-cuad.(ajustado) = 98.70%

Observaciones inusuales de 0.07

| Obs | 0.07 | Ajuste | EE de ajuste | Residuo | Residuo estándar |
|-----|---------|---------|--------------|---------|------------------|
| 1 | 50.1000 | 50.6000 | 0.1528 | -0.5000 | -2.31 R |
| 2 | 51.1000 | 50.6000 | 0.1528 | 0.5000 | 2.31 R |

R denota una observación con un residuo estandarizado grande.

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

| T | N | Media | Agrupación |
|---|---|-------|------------|
| 3 | 3 | 55.1 | A |
| 2 | 3 | 51.8 | B |
| 1 | 3 | 50.6 | C |
| 4 | 3 | 49.1 | D |

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.

Modelo lineal general: D k=0.07 (%) vs. T

Factor Tipo Niveles Valores
T fijo 4 1, 2, 3, 4

Análisis de varianza para D k=0.07 (%), utilizando SC ajustada para pruebas

| Fuente | GL | SC Sec. | SC Ajust. | CM Ajust. | F | P |
|--------|----|---------|-----------|-----------|-------|-------|
| T | 3 | 36.330 | 36.330 | 12.110 | 11.37 | 0.003 |
| Error | 8 | 8.520 | 8.520 | 1.065 | | |
| Total | 11 | 44.850 | | | | |

S = 1.03199 R-cuad. = 81.00% R-cuad. (ajustado) = 73.88%

Observaciones inusuales de D k=0.07 (%)

| Obs | D k=0.07 (%) | Ajuste | EE de ajuste | Residuo | Residuo estándar |
|-----|--------------|---------|--------------|---------|------------------|
| 10 | 52.0000 | 50.1000 | 0.5958 | 1.9000 | 2.25 R |

R denota una observación con un residuo estandarizado grande.

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

| T | N | Media | Agrupación |
|---|---|-------|------------|
| 3 | 3 | 54.7 | A |
| 2 | 3 | 52.1 | A B |
| 1 | 3 | 50.9 | B |
| 4 | 3 | 50.1 | B |

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.

Modelo lineal general: 0.08 vs. T

Factor Tipo Niveles Valores
T fijo 4 1, 2, 3, 4

Análisis de varianza para 0.08, utilizando SC ajustada para pruebas

| Fuente | GL | SC Sec. | SC Ajust. | CM Ajust. | F | P |
|--------|----|---------|-----------|-----------|-------|-------|
| T | 3 | 49.017 | 49.017 | 16.339 | 16.23 | 0.001 |
| Error | 8 | 8.053 | 8.053 | 1.007 | | |
| Total | 11 | 57.070 | | | | |

S = 1.00333 R-cuad. = 85.89% R-cuad. (ajustado) = 80.60%

Observaciones inusuales de 0.08

| Obs | 0.08 | Ajuste | EE de ajuste | Residuo | Residuo estándar |
|-----|---------|---------|--------------|---------|------------------|
| 3 | 49.4000 | 47.7333 | 0.5793 | 1.6667 | 2.03 R |

R denota una observación con un residuo estandarizado grande.

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

| T | N | Media | Agrupación |
|---|---|-------|------------|
| 3 | 3 | 52.7 | A |
| 2 | 3 | 50.8 | A |

| | | | |
|---|---|------|---|
| 4 | 3 | 48.2 | B |
| 1 | 3 | 47.7 | B |

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.

Modelo lineal general: D K=0.09 (%) vs. T

| | | | |
|--------|------|---------|------------|
| Factor | Tipo | Niveles | Valores |
| T | fijo | 4 | 1, 2, 3, 4 |

Análisis de varianza para D K=0.09 (%), utilizando SC ajustada para pruebas

| | | | | | | |
|--------|----|---------|-----------|-----------|------|-------|
| Fuente | GL | SC Sec. | SC Ajust. | CM Ajust. | F | P |
| T | 3 | 65.722 | 65.722 | 21.907 | 8.73 | 0.007 |
| Error | 8 | 20.080 | 20.080 | 2.510 | | |
| Total | 11 | 85.802 | | | | |

S = 1.58430 R-cuad. = 76.60% R-cuad.(ajustado) = 67.82%

Observaciones inusuales de D K=0.09 (%)

| | | | | | |
|-----|----------|---------|--------|---------|----------|
| | D K=0.09 | | EE de | | Residuo |
| Obs | (%) | Ajuste | ajuste | Residuo | estándar |
| 7 | 50.0000 | 53.0667 | 0.9147 | -3.0667 | -2.37 R |

R denota una observación con un residuo estandarizado grande.

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

| | | | |
|---|---|-------|------------|
| T | N | Media | Agrupación |
| 3 | 3 | 53.1 | A |
| 2 | 3 | 50.5 | A B |
| 1 | 3 | 48.3 | B |
| 4 | 3 | 46.9 | B |

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.

Modelo lineal general: 0.10 vs. T

| | | | |
|--------|------|---------|------------|
| Factor | Tipo | Niveles | Valores |
| T | fijo | 4 | 1, 2, 3, 4 |

Análisis de varianza para 0.10, utilizando SC ajustada para pruebas

| | | | | | | |
|--------|----|---------|-----------|-----------|------|-------|
| Fuente | GL | SC Sec. | SC Ajust. | CM Ajust. | F | P |
| T | 3 | 14.670 | 14.670 | 4.890 | 3.86 | 0.056 |
| Error | 8 | 10.127 | 10.127 | 1.266 | | |
| Total | 11 | 24.797 | | | | |

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

| | | | |
|---|---|-------|------------|
| T | N | Media | Agrupación |
| 3 | 3 | 49.7 | A |
| 2 | 3 | 48.9 | A |
| 1 | 3 | 47.3 | A |
| 4 | 3 | 47.0 | A |

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.

Modelo lineal general: 0.11 vs. T

| Factor | Tipo | Niveles | Valores |
|--------|------|---------|------------|
| T | fijo | 4 | 1, 2, 3, 4 |

Análisis de varianza para 0.11, utilizando SC ajustada para pruebas

| Fuente | GL | SC Sec. | SC Ajust. | CM Ajust. | F | P |
|--------|----|---------|-----------|-----------|------|-------|
| T | 3 | 15.503 | 15.503 | 5.168 | 0.86 | 0.499 |
| Error | 8 | 47.967 | 47.967 | 5.996 | | |
| Total | 11 | 63.469 | | | | |

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

| T | N | Media | Agrupación |
|---|---|-------|------------|
| 3 | 3 | 49.1 | A |
| 2 | 3 | 48.0 | A |
| 4 | 3 | 46.6 | A |
| 1 | 3 | 46.3 | A |

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.

Modelo lineal general: 0.12 vs. T

| Factor | Tipo | Niveles | Valores |
|--------|------|---------|------------|
| T | fijo | 4 | 1, 2, 3, 4 |

Análisis de varianza para 0.12, utilizando SC ajustada para pruebas

| Fuente | GL | SC Sec. | SC Ajust. | CM Ajust. | F | P |
|--------|----|---------|-----------|-----------|------|-------|
| T | 3 | 7.94 | 7.94 | 2.65 | 0.22 | 0.881 |
| Error | 8 | 97.22 | 97.22 | 12.15 | | |
| Total | 11 | 105.16 | | | | |

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

| T | N | Media | Agrupación |
|---|---|-------|------------|
| 3 | 3 | 47.5 | A |
| 2 | 3 | 47.2 | A |
| 4 | 3 | 46.4 | A |
| 1 | 3 | 45.4 | A |

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.

