

51

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE QUIMICA

“Solubilidad del Nitrógeno
en los
Piensos Ganaderos”.

T E S I S

Que para obtener el título de:
QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO

P R E S E N T A:

ROSA CAMACHO SANCHEZ



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

CLAS. Tesis
ADQ. H. 58
FECHA 1975
PROC. 1975



QUIMICA

JURADO ASIGNADO SEGUN EL TEMA

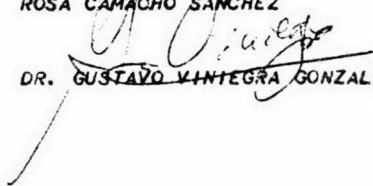
PRESIDENTE	PROF. ENRIQUE GARCIA GALEANO
VOCAL	PROFA. GUADALUPE VELEZ PRATT
SECRETARIO	PROFA. ETHELVINA MEDRANO DE JAIMES
1er SUPLENTE	PROF. ENRIQUE CALDERON GARCIA
2o SUPLENTE	PROFA. BEATRIZ MEDINA JIMENEZ

SITIO DONDE SE DESARROLLO EL TEMA: GRUPO DE BIOTECNOLOGIA, INSTITUTO DE INVESTIGACIONES BIOMEDICAS, UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO Y EN EL DEPARTAMENTO DE BROMATOLOGIA Y NUTRICION DE LA FACULTAD DE VETERINARIA Y ZOOTECNIA DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO.

SUSTENTANTE


ROSA CAMACHO SANCHEZ

ASESOR DEL TEMA


DR. GUSTAVO VINIEGRA GONZALEZ

*Todavía no se han levantado
las vallas que le digan el-
talento: De aquí no pasarás.*

L.V. Beethoven.

*Donde el espíritu no conoce el temor y la frente se levanta;
Donde el conocimiento es libre;
Donde el mundo no ha sido parcelado por estrechas parcelas me
dianeras;
Donde las palabras brotan de las profundidades de la sinceri
dad;
Donde el esfuerzo infatigable tiende los brazos hacia la per
fección;
Donde el río claro de la razón no se ha desbordado mortalmente
en el árido y espantoso desierto de la rutina;
Donde la mente, guiada por tí, penetra en el crecimiento con
tinuo del pensamiento y de la acción;
En este paraíso de libertad; ¡oh Padre mío!, haz que despier
te mi Patria.*

Rabindrenath Thagore.

A mis queridos Padres

A mis hermanos

A mis maestros

A mis amigos

*Con profundo agradecimiento
al Dr. Gustavo Viniegra G.*

Y

*al Q.F.B. José Pablo Pérez Gavilán y Escalante
por su apoyo desinteresado en el*

desarrollo de este trabajo, lo mismo que

al Dr. Carlos Peraza

al Dr. Adrián Escobosa

y al Dr. René A. Ledesma

de la Facultad de Veterinaria y Zootecnia de la

Universidad Nacional Autónoma de México

por su valiosísima cooperación.

CONTENIDO

INTRODUCCION	1
CAPITULO I	
GENERALIDADES SOBRE LOS RUMIANTES	6
CAPITULO II	
GENERALIDADES BIOQUIMICAS	12
SINTESIS DE PROTEINAS EN EL RUMEN	27
UTILIZACION DE NITROGENO NO PROTEICO	30
FERMENTACION DE LOS CARBOHIDRATOS EN EL RUMEN	33
IMPORTANCIA DE MEDIR LA SOLUBILIDAD DE LAS PROTEINAS EN EL RUMEN	35
INSOLUBILIZACION DE LAS PROTEINAS	38
TECNICAS DE INSOLUBILIZACION	
a) Recubrimiento con taninos	38
b) Tratamiento por calentamiento	41
c) Tratamiento con aldehidos	42
CAPITULO III	
MATERIAL Y METODOS	45
1) Determinación de proteina por el método de Kjeldahl	50
2) Método para la determinación de granulometría	52
3) Determinación de nitrógeno soluble	53
CAPITULO IV	
RESULTADOS	
Concentración de proteina cruda (NX6.25)	56
Granulometría de los alimentos ganaderos	57
Relación entre solubilidad proteica y el pH de la solución	58
Posibles efectos de la solubilidad sobre los costos de los suplementos proteicos	59
DISCUSION	60
CONCLUSION	62
BIBLIOGRAFIA	64

INTRODUCCION (25)

En la actual crisis mundial de alimentos, el que todos los hombres tengan suficiente alimento, depende de que está haciendo el hombre mismo respecto a la alimentación y a la explosión demográfica. Se ha dicho que la solución de la crisis mundial de alimentos tiende a aumentar la producción de los mismos en las naciones en desarrollo mientras se reduce la velocidad de incremento de la población, además de aumentar la productividad en las áreas en desarrollo.

La principal estrategia para llevar la producción es la tecnología. La tecnología debe ser creada y fomentada, de cualquier modo, por multitud de instituciones públicas y privadas. Investigación, educación, formación de capital, desarrollo de industrias, actitudes gubernamentales y de servicio, modelos de tenencia de tierra, y muchos otros factores que deben ser integrados o cambiados antes que la tecnología pueda realizar con toda su potencia. Si la población no es controlada, la tecnología puede no ser suficiente para aliviar la crisis mundial de alimentos.

La introducción de nuevos métodos demanda usualmente el mejoramiento de otros. Un ejemplo es el resultado de las nuevas variedades de arroz y trigo en la llamada revolución verde de Asia. Para la obtención completa de esos mejoramientos biológicos se requiere de facilidades (vehículos y estructuras).

Expansión de siembras.

Una primera pregunta relacionada con el futuro del abasteci-

miento de alimentos es si la superficie de la tierra puede utilizarse completamente. Se estima sobre la base del agua disponible, que una tercera parte de la tierra es posible sembrarla. Hasta 1970 se había usado solamente una quinta parte, y 10 % de ella — fue irrigada de hecho, las mejores tierras ya fueron sobrecultivadas.

Teóricamente la tecnología puede hacer mucho por incrementar los cultivos en las tierras tropicales vacías. Primero hay que fertilizar, pero se deben transportar los fertilizantes a grandes distancias o importarlos. Los nutrientes por sí mismos son insuficientes; el suelo y su capacidad debe entenderse. La protección contra insectos y enfermedades de las siembras es vital. Máquinas, semillas, petróleo y créditos también son requeridos.

Se pueden ganar algunas tierras para sembrar de las áreas forestales y pastizales, aunque éstas últimas no son buenas. Una razón es que son dedicadas a la obtención de productos animales. Por lo tanto para las tierras no utilizadas se requieren fertilizantes y agua.

Los fertilizantes son obtenidos de fuentes no renovables. La tecnología para su manufactura depende de las fuentes de energía para la fijación de nitrógeno y eventualmente, para el tratamiento de fosfatos, lo cual requiere un alto costo.

El valor del agua adecuada a un tiempo apropiado para la producción de las siembras es claro, si la región es árida o húmeda, la mayor productividad está unida a una irrigación oportuna.

Nuevos productos proteínicos.

La expansión de producción de proteínas de fuentes no conven

cionales puede ayudar a mejorar los suplementos alimenticios. El petróleo y el gas natural dan una fuente de proteínas. Proteína de levadura se está obteniendo en la India, de la lana en Nueva Zelandia, proteína derivada de la acción de hongos en almidón en Inglaterra, "carne de soya" en Norte América. Levadura tórcula — creciendo en desechos vegetales o animales pueden suministrar proteína. El reciclar los desechos animales como suplemento alimenticio o para ganado también es una posibilidad. Aminoácidos sintéticos (lisina, metionina, y treonina) pueden darse como suplemento proteínico con los granos. La urea es usada ahora comúnmente como una fuente de nitrógeno en alimentos para ruminantes; eventualmente, esto puede proporcionar otra forma de hacer proteínas de materiales no proteínicos. Esos y otros esquemas son ejemplos verdaderamente excitantes de la nueva tecnología, pero muchos de ellos demandan algún grado de capacidad industrial para una producción significativa, capacidad no disponible todavía en muchos países en desarrollo.

Productos animales.

Hay quienes creen que el hombre tendrá que eliminar productos animales de su dieta, porque los animales consumen granos — que el hombre también puede comer, esto tal vez no debe ser tan drástico, pero si parece ser necesario buscar métodos de alimentación de los animales domésticos, que sean menos competitivos — con la alimentación humana. Para ello, los ruminantes (v. gr. bovinos, ovinos y caprinos) pueden desempeñar un papel crucial pues no requieren grandes proporciones de proteína verdadera en la dieta ya que pueden sintetizar cerca del 50 % de sus requerimientos proteínicos por la asimilación de urea u otras fuentes nitrogenadas no proteicas dentro de su sistema ruminal de fermentación — (17). Para poder aprovechar al máximo esta propiedad de biosín-

tesis ruminal de proteínas, es necesario evitar que la proteína verdadera suplementaria no sea destruida en el rumen y a su vez, que sea fácilmente asimilable por el animal.

Uno de los procedimientos más sencillos para lograr una eficiente producción de proteína por los rumiantes, consiste en seleccionar cuidadosamente las fuentes de proteína que llenen las siguientes propiedades: 1) que sean digeridas en grado mínimo por la flora ruminal; 2) que sean digeridas en grado máximo por las enzimas del obomaso y del duodeno.

Una de las variables importantes en cuanto a la digestión de las proteínas es su solubilidad, pues, según se explicará más adelante en detalle, las proteínas insolubles en el rumen son poco digeridas por los microorganismos ahí presentes. Como esta es una propiedad sencilla de medirse y puede ser de uso práctico para la selección de suplementos proteínicos, hemos decidido estudiar la solubilidad del nitrógeno contenido en algunos de los principales constituyentes de los alimentos para rumiantes en México. Este estudio tiene por objetivos principales: 1) servir de antecedente práctico de referencia para futuros trabajos bromatológicos con alimentos ganaderos de México y 2) también, servir de referencia para otros estudios realizados en nuestro laboratorio, en relación con la fermentación ruminal de las proteínas y de una manera muy especial, del estudio posterior de la digestión y asimilación proteica en el rumen de animales alimentados con dietas ricas en carbohidratos y deficientes en proteína v. gr. dietas basadas en la caña de azúcar y sus derivados agroindustriales (melaza y bagacillo).

Para la realización de este trabajo se partió del conocimiento de otros estudios similares (40, 35, 62) y se procedió a la adaptación de las técnicas ahí empleadas, en relación con las

condiciones prácticas de nuestro laboratorio y con muestras provenientes de granjas mexicanas. También se le dió una mayor versatilidad a la medición aquí presentadas, al considerar la solubilidad de las proteínas en el rango útil del pH que va desde 6.5, que es el pH habitual del rumen, hasta 8.5, que es el pH de la saliva. De esta forma nuestros datos nos indican la acidez o alcalinidad de las sustancias nitrogenadas en diversos suplementos proteínicos y por lo tanto, sirven de estudio preliminar para un trabajo futuro sobre su procesamiento físico o químico, que pudiera modificar sus propiedades de digestión o asimilación en el rumiante, según se discute en el capítulo de insolubilización de proteínas.

CAPITULO I

GENERALIDADES SOBRE LOS RUMIANTES.

Ya que son los rumiantes los organismos donde estudiamos la solubilidad del nitrógeno, revisaremos brevemente algunas características y fisiología de estos animales.

Los rumiantes son hervívoros, caracterizados especialmente por mascar el bolo alimenticio; ellos comprenden cabras, venados, antílopes, ovejas, camellos, llamas, girafas y la tribu del buey, casi todos son mamíferos económicamente importantes para el hombre.

En muchos de ellos no existen los dientes incisivos o caninos en la mandíbula superior, en lugar de ellos existe — substituido por una plataforma callosa, contra la cual los incisivos inferiores muerden. Seis incisivos existen en la mandíbula inferior. Los caninos siempre están presentes ahí, y están usualmente inclinados hacia adelante y hacia los incisivos. El número de dientes caninos inferiores generalmente son dos.

A continuación se explica brevemente el estómago de los rumiantes por la importancia metabólica con respecto a las proteínas y su transformación mediante la flora ruminal que forma una simbiosis con el rumiante.

Los rumiantes tienen un sistema digestivo que consta de cuatro compartimentos: rumen, retículo, omaso y abomaso; siendo el rumen uno de los compartimentos más importantes por la transformación metabólica que ahí sufren los alimentos, fig. 1.

El rumen es un sistema anaerobio muy reductor (3), con un —

pH promedio de 6.5, con una temperatura de 39°C y una fase gaseosa compuesta de bióxido de carbono, metano y nitrógeno.

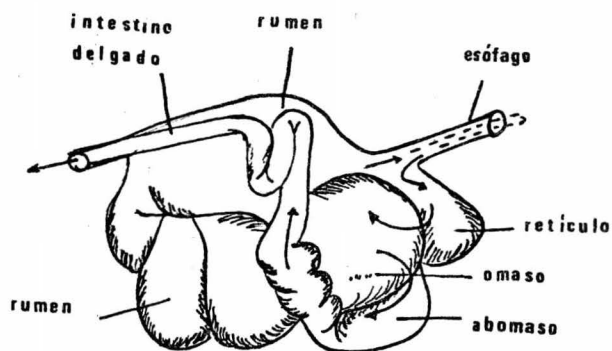


Fig. 1 Representación esquemática de los órganos que forman el estómago del rumiante: rumen, retículo, omaso y abomaso (3).

El crecimiento del rumen se realiza durante el primer año de vida y el estímulo principal de su desarrollo es la ingestión de sólidos. El rumen representa el 80 % del volumen total del estómago, de 4 a 8 litros en ovinos y de 100 a 300 litros en bovinos.

El rumen no es funcional en los animales recién nacidos, si no hasta después de varias semanas. En este período el animal — no destetado se alimenta con leche que se absorbe rápidamente — sin predigestión en el rumen, la leche pasa directamente del esófago al omaso, desviándose del rumen, por medio de la acanaladura esofágica, estructura que se extiende desde el cardias hasta el orificio retículo omasal (3). La acción de mamar proporciona el estímulo principal para la acción refleja que cierra la acanaladura y pone el mecanismo en juego.

El revestimiento del rumen es un epitelio estratificado con papilas; en los animales muy jóvenes sólo hay papilas rudimentarias. El crecimiento de éstas se realiza paralelamente con el inicio de la fermentación en el rumen y aumentan la superficie de la pared del rumen necesaria para la absorción de los metabolitos, el agua pasa rápidamente a través del epitelio del rumen en virtud de los cambios osmóticos en el contenido ruminal.

A medida que crece el rumen, va estableciéndose una flora mixta de bacterias y protozoarios, que provienen de los alimentos ingeridos y del contacto con otros animales.

Es esencial el flujo constante de saliva para la masticación e ingestión de alimentos secos. Denton (3) comprobó que es continuo el flujo y susceptible de estimulación psíquica. Los alimentos se retienen en el rumen y en el retículo mientras alcanzan una consistencia fina, para lo cual el animal efectúa un proceso llamado rumia que consiste en regresar los alimentos del rumen y del retículo a la boca, remasticados, mezclados con saliva y otra vez ingeridos, lo cual facilita la remoción de partículas

alimenticias del rumen para reducir su tamaño.

Las proteínas ingeridas por los rumiantes son desintegradas (48) por la acción de las enzimas proteolíticas de la flora bacteriana del rumen, formándose péptidos y aminoácidos (2), que a su vez son atacados por desaminasas para dar amoniaco. Este se absorbe directamente en el rumen por las venas ruminales y parte del nitrógeno regresa al rumen en forma de urea en la saliva, habiéndose metabolizado en el hígado.

Las vías del metabolismo del nitrógeno en los rumiantes se resume esquemáticamente en la figura (2).

Mc Donald (42) dividió el nitrógeno contenido en el rumen — en nitrógeno proteico (nitrógeno total menos nitrógeno no proteico), nitrógeno amoniacal y nitrógeno residual (nitrógeno no proteico menos nitrógeno amoniacal) y examinó las variaciones de estas fracciones en varias raciones ricas en proteínas. Los aminoácidos formados durante la digestión de proteína en el contenido ruminal, trazas de aminoácidos libres pueden demostrarse por medio de cromatografía en papel (35).

El valor biológico de una proteína reside en su contenido — de aminoácidos, esta evaluación tiene poco significado respecto a los rumiantes. Una proporción considerable de las necesidades de proteínas del rumiante son proporcionadas por las proteínas — microbianas. Los microorganismos del rumen son capaces de utilizar sustancias nitrogenadas simples, tales como el amoniaco para la síntesis de las proteínas celulares. Estos organismos finalmente pasan del rumen al abomaso y al intestino, donde las proteínas son digeridas y absorbidas como en los animales monogástricos.

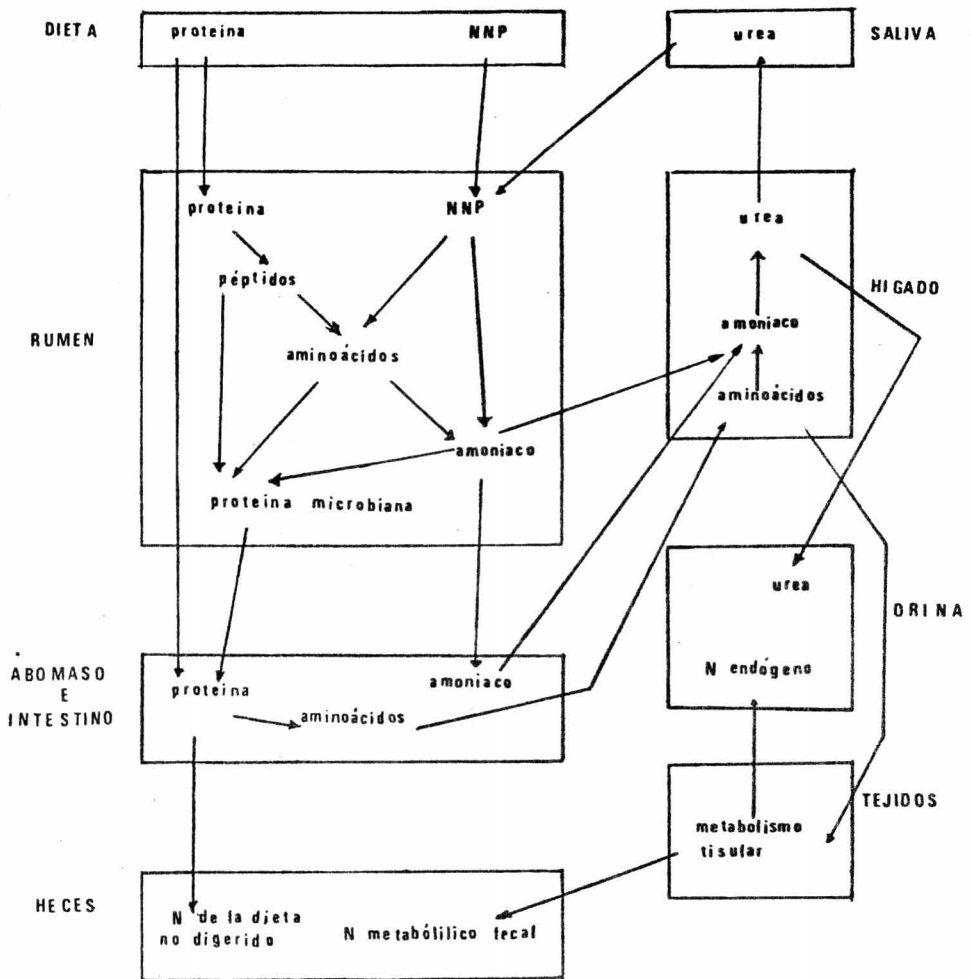


FIG.2 Metabolismo del nitrógeno en el rumen

La digestión de la celulosa es la función fundamental del rumen la cual se efectúa por la actividad celulolítica de la población microbiana. Desde 1863 Tappeiner demostró que la fermentación de la celulosa en el rumen producía grandes cantidades de ácidos grasos volátiles y está demostrado que los ácidos grasos volátiles encontrados en el rumen provienen en gran parte de la fermentación de los carbohidratos.

Barcroft y col. (3) fueron los primeros en demostrar la absorción de los ácidos grasos volátiles en el rumen cuando demostraron que la concentración de éstos en la corriente sanguínea del rumen era considerablemente más alta que en la sangre periférica.

La influencia del pH en el contenido ruminal para la absorción de los ácidos grasos fue demostrado por Gray (3).

Los minerales solubles son absorbidos en el rumen y en otras porciones del tracto digestivo y por la orina se eliminan las cantidades que exceden a las necesidades del organismo.

La saliva es el factor más importante en el mantenimiento del volumen de los líquidos y de la composición inorgánica del contenido del rumen.

La flora microbiana del rumen abastece al animal de las vitaminas para la alimentación, se ha encontrado que producen principalmente vitaminas del grupo B: riboflavina, tiamina, ácido nicotínico, ácido fólico, ácido pantoténico, biotina, piridoxina, y vitamina B 12. Las vitaminas A, D, y E no son sintetizadas en el rumen y deben suministrarse con los alimentos. La vitamina K si es sintetizada en el rumen.

Se producen cantidades considerables de dióxido de carbono y de metano durante la fermentación del rumen, los cuales son e

eliminados por eructación, aunque parte se elimina por los pulmones.

CAPITULO 11

GENERALIDADES BIOQUIMICAS.

Para entender mejor las conversiones biológicas de las proteínas, se presenta aquí una revisión de su metabolismo tomado de (24).

Las proteínas son constituyentes esenciales de todas las células y constituyen el 18 % del peso del cuerpo. Son polímeros de alto peso molecular, de doce mil a varios millones. Las unidades monoméricas de las proteínas son aminoácidos. Estos están unidos por enlaces peptídicos.

Las proteínas de la dieta son digeridas a través de la acción de las enzimas hidrolíticas (proteasas), las cuales hidrolizan los enlaces peptídicos. Los aminoácidos libres son absorbidos por las células del intestino y pasan a la sangre portal y son transportados al hígado y parte de ellos pasan a través de la sangre a otros órganos y tejidos.

Las proteínas son alimento muy importante en los organismos heterótrofos ya que estas sustancias son requeridas para llenar las necesidades de nitrógeno de los organismos. Pero no cualquier proteína es capaz de llenar estos requerimientos, sino solamente las llamadas de "alto valor biológico" que son aquellas que en su composición entran una cierta proporción de aminoácidos esenciales y desde luego parte de los no esenciales. Aunque este factor no es válido para los rumiantes, es conveniente recordarlo.

El nitrógeno proteico que se aprovecha debe estar en forma de amino ácidos. Por ello, después de la digestión enzimática de las proteínas, que deja libres a los aminoácidos, llevarán a cabo estos una serie muy variada de reacciones que los transformará en muchos productos, algunas de estas reacciones siendo lo más importante las transformaciones del nitrógeno contenido en los aminoácidos., fig. (3).

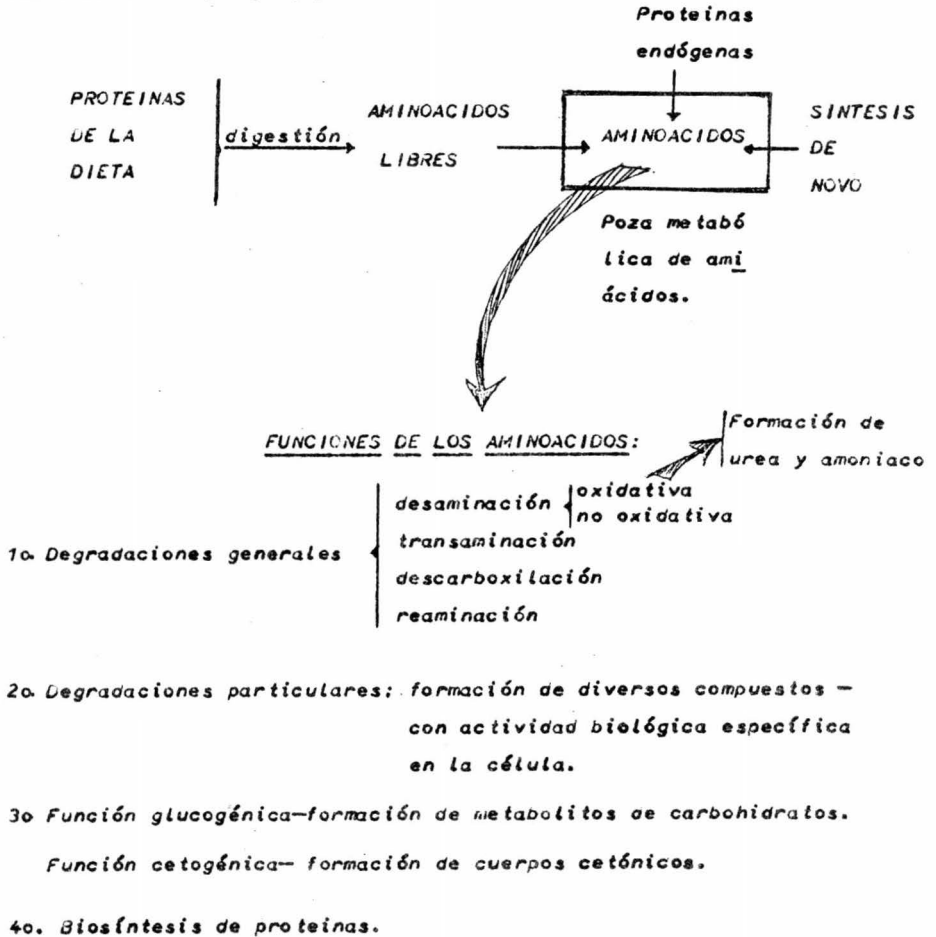


Figura 3. Esquema resumido del metabolismo de aminoácidos y proteínas.

El metabolismo intracelular de los aminoácidos no están necesariamente en equilibrio con los aminoácidos de la circulación, la sangre sirve como fuente de aminoácidos necesarios para síntesis de proteínas. Los aminoácidos en exceso son catabolizados por el hígado. El proceso catabólico incluye comúnmente desaminación y utilización de los alfa cetoácidos resultantes para propósitos energéticos. El amoniaco liberado, por otra parte, es convertido en urea y es excretado por el sistema urinario. El uso de aminoácidos marcados permiten estimar las siguientes velocidades: de absorción, degradación y reorganización de proteínas biosintetizadas.

La forma en la cual los aminoácidos pueden estar disponibles para la síntesis de otros aminoácidos es por medio de las reacciones de desaminación en las cuales se produce amoniaco.

Desaminación.

La desaminación es la eliminación del grupo amino de un aminoácido. Este proceso se lleva a cabo en varios tejidos y es particularmente activo en el hígado y riñones. La desaminación puede ser oxidativa y no oxidativa.

Desaminación oxidativa.

Hay varias enzimas especializadas en la desaminación oxidativa de aminoácidos. Una de ellas es la D aminoácido oxidasa. Esta enzima está ampliamente distribuida en los tejidos animales, es bastante activa, pero es poco conocida su significado en vista de la escasez o completa ausencia de D aminoácidos en los tejidos de los mamíferos. En contra parte, L aminoácido oxidasa, por otro lado, tiene poca actividad y una distribución restringida a los tejidos animales mamíferos.

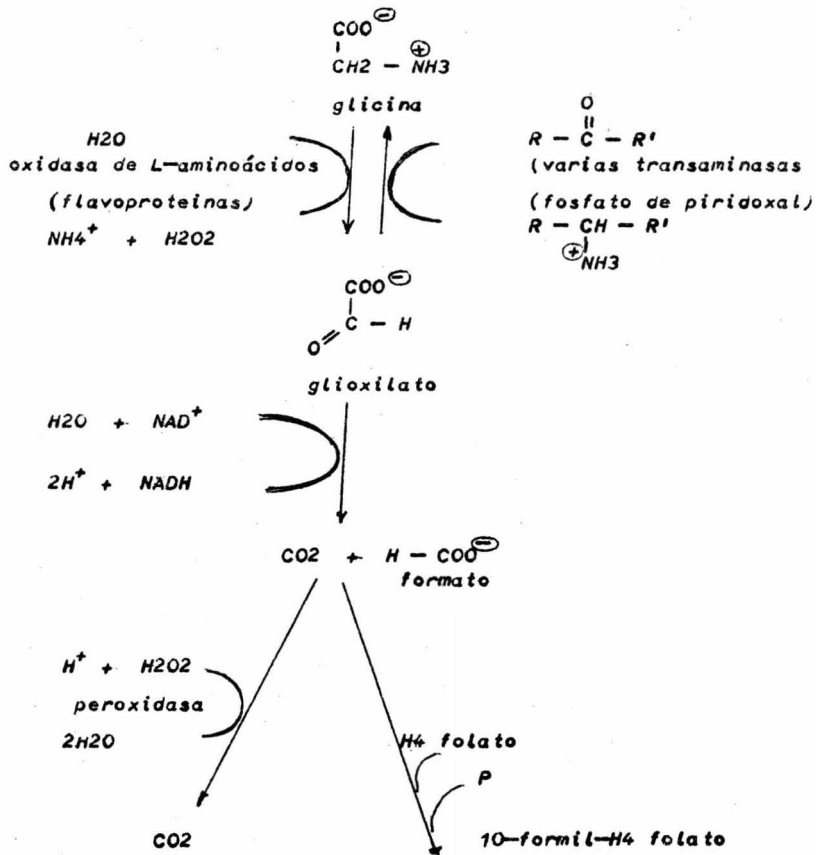


Fig. 4. Representación esquemática de la desaminación oxidativa por L aminoácido oxidasa, en la cual glicina y glioxilato son metabólicamente intercambiables (43).

Las *D* aminoácido oxidasas son flavoproteínas conteniendo *FAD*, flavin adenin dinucleótido, mientras que los alfa aminoácidos oxidasas contienen *FMN*, flavin mono nucleótido como coenzima.

Para eliminar los dos átomos de hidrógeno del sustrato aminoácido, el hidrógeno pasa al oxígeno para formar peróxido de hidrógeno, el cual se descompone rápidamente por catalasas. El iminoácido resultante es inestable y rápidamente sufre hidrólisis para formar amoniaco y un alfa cetoácido.

Una tercera enzima que implica desaminación oxidativa es *L*-glutámico dehidrogenasa. Esta enzima está ampliamente distribuida en los tejidos de los animales mamíferos, es muy activa y cataliza una reacción reversible. La función de esta dehidrogenasa se describe en la figura 5.

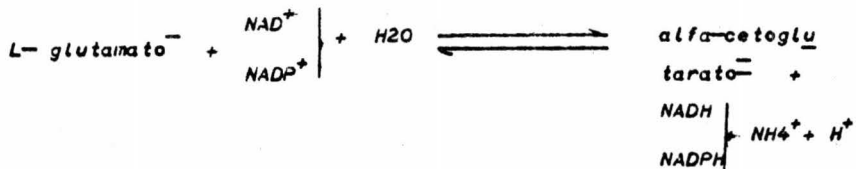


Figura 5. Desaminación oxidativa por *L*-glutámico dehidrogenasa.

La coenzima NAD^+ acepta dos hidrogenos del ácido L glutámico para dar un alfa iminoácido y $NADH$. El iminoácido rápidamente se hidroliza para producir alfa cetoglutárico y amoniaco libre. $NADH$ puede ser manejada por una variedad de sistemas, incluyendo la cadena oxidativa. Se enfatiza que esta secuencia de reacciones es rápidamente reversible; la reacción reversible es una aminación-reductiva de ácido alfa cetoglutárico para dar ácido glutámico.

La glicina también puede sufrir desaminación oxidativa la cual esta catalizada por glicina oxidasa. Un mecanismo de esta desaminación es a través esencialmente del mismo que para D o L-amino oxidasa.

Desaminación no oxidativa.

Una contribución significativa a la producción total de amoniaco resulta de la acción de varias aminoácido desidrasas las cuales requieren la coenzima piridoxal fosfato. Los substratos para este grupo de enzimas incluyen serina, treonina, cisteina, así como homoserina y homocistina, las cuales son formadas en el metabolismo de aminoácidos. Los hidroxicompuestos (serina, treonina y homoserina) son desaminados por un proceso que se muestra en la figura 6.

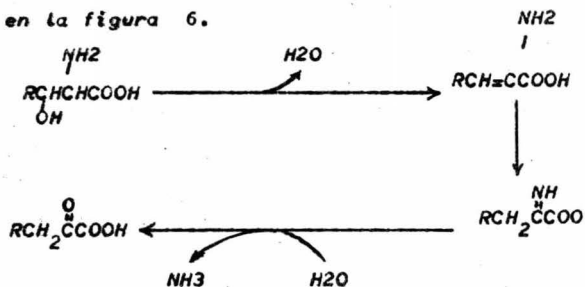


Figura 6. Desaminación no oxidativa, de aminoácidos con hidroxilo, por aminoácido desidrasas.

La deshidratación produce un intermediario el cual sufre — transformación para formar un aminoácido. El último rápidamente sufre hidrólisis para producir un cetoácido y amoníaco.

Los aminoácidos conteniendo azufre (cisteína y homocisteína) son desaminadas en una secuencia de reacciones resumidas en la — figura 7.

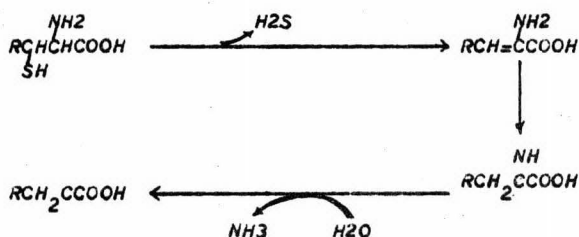


Figura 7. Acción de la desulfhidrasa sobre sulfhidrilaminoácidos.

La desulfhidración seguida por un rearrreglo da un iminoácido el cual es espontáneamente hidrolizado para producir un cetoácido y amoníaco.

El grupo amino removido puede también ocurrir por mecanismos especiales para aminoácidos especiales. Por ejemplo, histidina alfa desaminasa para dar amoníaco libre y ácido urocánico. Figura 8.

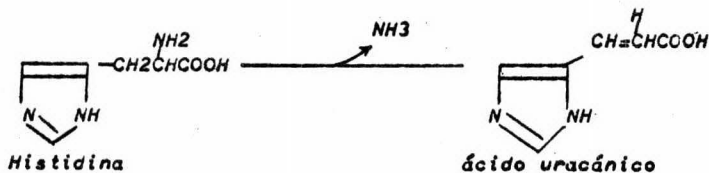


Figura 8. Desaminación de histidina por histidinadesaminasa.

Transaminación.

El proceso de interconversión de aminoácido-cetoácido ha sido llamado transaminación. En este proceso el amoniaco no aparece en estado libre. La coenzima para las transaminasas es piridoxal fosfato, el cual sirve como un intermediario funcional en el proceso de transaminación. La reacción es reversible y está catalizada por enzimas transaminasas, las cuales están ampliamente distribuidas en tejidos animales, especialmente en el corazón, cerebro, riñón, testículo e hígado. La figura 9 muestra la reacción general en la transaminación ilustrando la participación de piridoxal fosfato y la formación de un nuevo aminoácido.

Los grupos alfa amino de muchos aminoácidos pueden ser convertidos a amoniaco por transaminación consecutiva con alfa cetoácido y oxidación del ácido glutámico formado por L glutámico dehidrogenasa. El resultado es la formación de amoniaco libre, un alfa cetoácido derivado del aminoácido original y NADH. El último puede ser oxidado por el sistema mitocondrial de transporte activo, o puede ser reutilizado en la desaminación reductiva del ácido alfa cetoácido. Aunque las reacciones más frecuentes de transaminación incluyen aminoácidos dicarboxílicos y cetoácidos, la transaminación también ocurre entre pares de ácidos monocarboxílicos. Además; la transaminación ha sido observada con beta-, gama y delta aminoácidos. Por otra parte, las reacciones de transaminación de glutamina o asparragina con cetoácidos son conocidas que pueden ocurrir. El grupo amida del nuevamente formado alfa cetoácido es separado por hidrólisis. Esas reacciones son irreversibles en contraste con las típicas reacciones de transaminación de aminoácidos, tienden a ser irreversibles por la rápida hidrólisis de la unión amida.

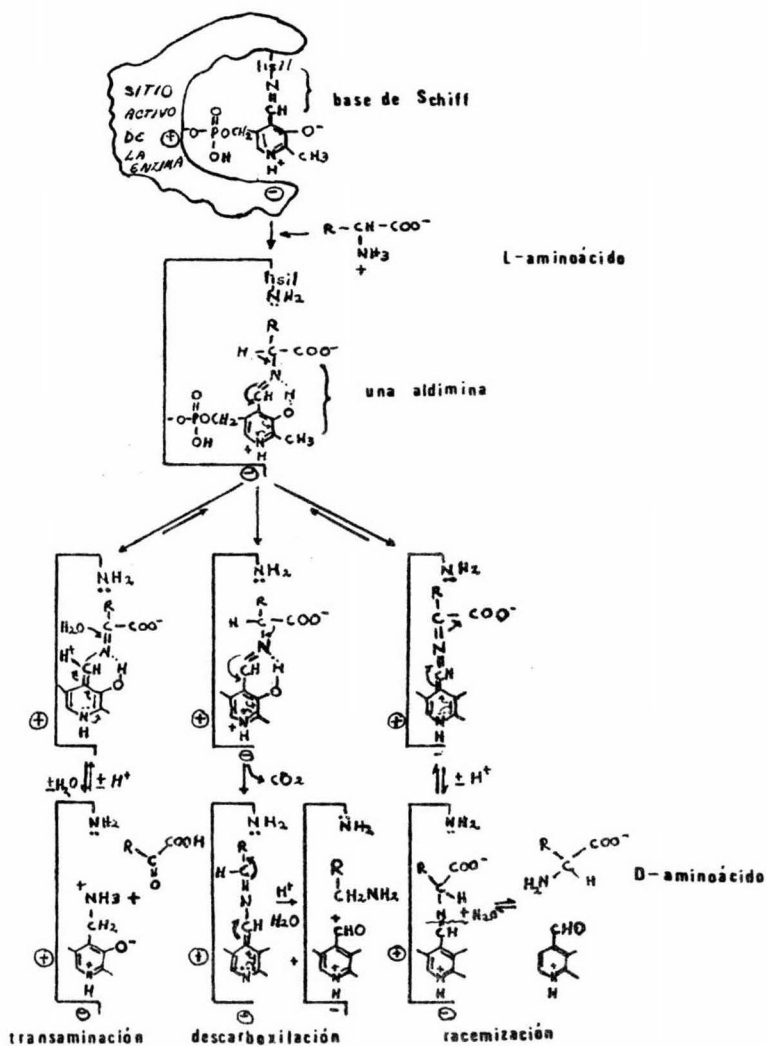


Fig.9 Mecanismo de acción del fosfato de piridoxal en las reacciones generales de los aminoácidos.

Descarboxilación.

Muchos aminoácidos pueden ser descarboxilados por enzimas — aminoácido descarboxilasas, las cuales requieren piridoxal fosfato como cofactor. El resultado neto es la formación de aminas primarias y dióxido de carbono. Varias de esas aminas tienen fuertes efectos farmacológicos, mientras que otras son importantes como precursores de hormonas, como componentes de coenzimas y otras sustancias activas.

Formación de amoníaco.

El amoníaco producido por las reacciones de desaminación varía con el tipo de animal y su habitat. Puesto que el amoníaco es tóxico, el tejido del animal (mamífero) está equipado con varios mecanismos para convertir el amoníaco en sustancias no tóxicas, para el aprovechamiento del animal o para su excreción. Los métodos más significativos para disponer de amoníaco son: 1o Formación de urea (fig. 10) y excreción, 2o biosíntesis de otros compuestos conteniendo nitrógeno para ser usados o excretados, y 3o eliminación directa en la orina.

Formación de urea.

La desaminación de los aminoácidos ocurre primero en el hígado y el amoníaco resultante se convierte en urea en especies — mamíferas. Las reacciones que ocurren en el ciclo de la urea se presentan en la figura 10.

El amoníaco y el dióxido de carbono (derivado del ciclo del ácido cítrico) interaccionan con ATP para formar fosfato de carbamilo. En el hígado de los mamíferos, el proceso requiere otro factor, ácido N-acetilglutámico, el cual aparentemente forma un "dióxido de carbono activo" con el consumo de una mol de ATP. El dióxido de carbono no está presumiblemente unido al átomo de—

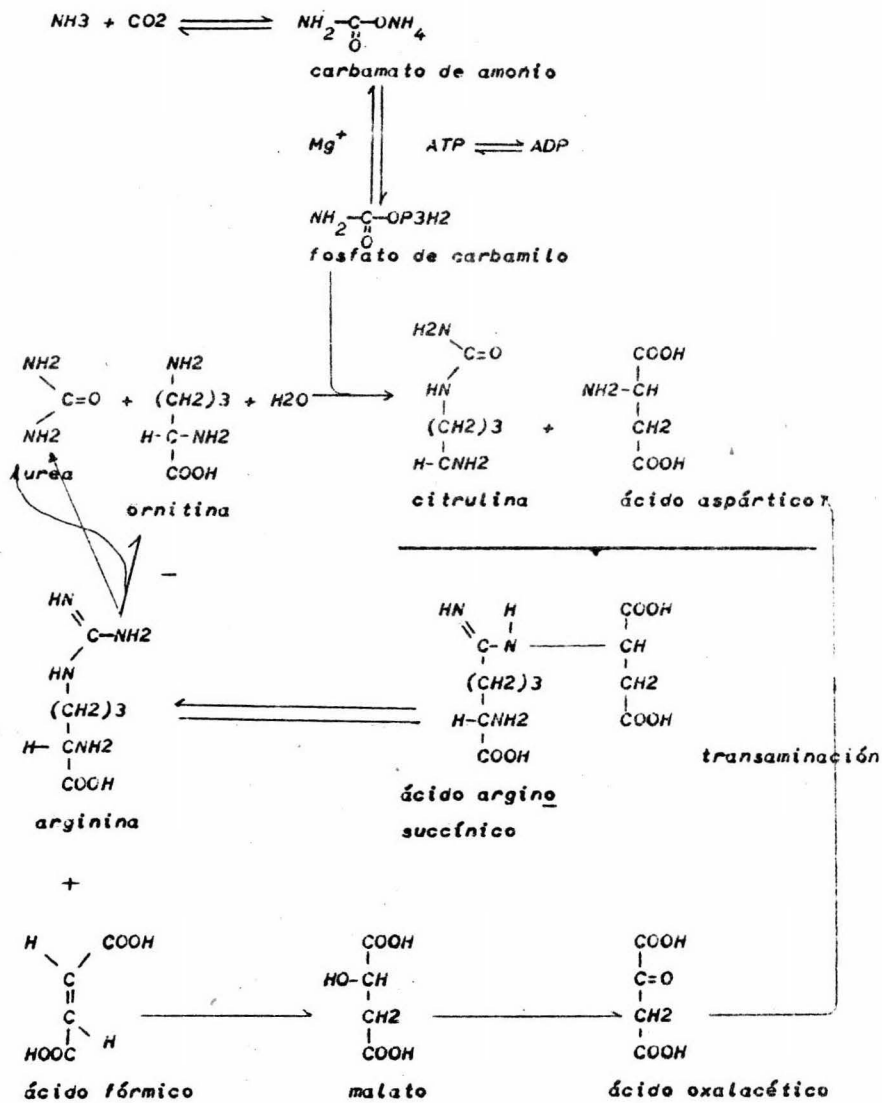


Figura 10. Ciclo de la UREA.

nitrógeno. El "dióxido de carbono activo" aparentemente unido con el ion amonio con la ayuda de ATP para dar fosfato de carbamilo. El sistema enzimático (fosfato de carbamilo quinasa) es capaz de unir iones aún a muy bajas concentraciones.

El fosfato de carbamilo reacciona con ornitina para dar citrulina y fosfato inorgánico. El ácido aspártico se combina — con citrulina en presencia de ATP para producir arginilsuccinato, es una reacción catalizada por arginosuccinato sintetasa. El ácido arginilsuccinico es metabolizado por la arginilsuccinasa para formar ácido fumárico y arginina. Esta última por la acción de la enzima arginasa, forma urea y ornitina, completando así el ciclo. La arginasa se encuentra solamente en el hígado de animales los cuales excretan urea (ureotélicos). Los pájaros y muchos reptiles no tienen la enzima arginasa en el hígado. El ácido fumárico formado en la reacción arginilsuccinasa se hidrata rápidamente, de esta forma da ácido málico, se reoxida y forma ácido oxalúctico en el ciclo del ácido cítrico. Un análisis al ciclo de la urea indica que dos moles de amoniaco (uno derivado de ácido aspártico y el otro de la desaminación de aminoácidos) reaccionan con dióxido de carbono para producir urea. El ácido aspártico se produce rápidamente por transaminación de ácido glutámico con ácido oxalúctico. El ácido glutámico se forma fácilmente por transaminación del ácido alfa cetoglutárico con muchos aminoácidos. Así, el ácido aspártico sirve como un compuesto — conductor de nitrógeno alfa amino de aminoácidos a urea. Todo — el sistema para convertir amoniaco y dióxido de carbono a urea — es un proceso que consume energía, el cual requiere tres moles — de ATP.

Reaminación.

Parte del amoníaco resultante de la desaminación de aminoácidos se utiliza en la formación de compuestos nitrogenados útiles biológicamente, por ejemplo, por aminación reductiva del ácido alfa cetoglutarico, se forma ácido glutámico. El amoníaco también está involucrado en la síntesis de purinas, pirimidinas y porfirinas.

Una de las más útiles formas de eliminar amoníaco tóxico de un sistema biológico es a través de la síntesis de glutamina, — figura 11.

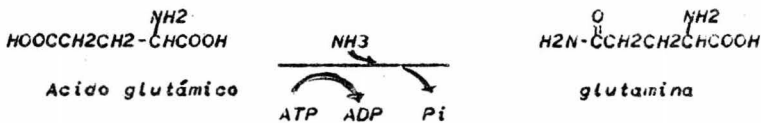


Figura 11. Síntesis de glutamina.

Esta fijación de amoníaco, la cual es más prominente en tejidos extrarrenales, requiere ATP. Glutamina es transportada de varios tejidos por la sangre a los riñones, donde puede ser almacenada hasta cierto punto.

Excreción directa de amonio.

El amonio urinario se deriva de los tejidos epiteliales en el riñón de la hidrólisis de glutamina o de la desaminación de alfa aminoácidos. Glutamina cataliza la hidrólisis de la unión amida de la glutamina para producir amonio y ácido glutámico.

La excreción de amoníaco sirve como un mecanismo para conservar iones sodio.

Biosíntesis de aminoácidos.

Los aminoácidos esenciales y no esenciales son necesarios para la vida del animal. Los aminoácidos esenciales deben ser proporcionados porque la incapacidad del animal para sintetizar cantidades adecuadas para satisfacer sus necesidades metabólicas. De esta manera, los animales son dependientes de las plantas y de los microorganismos por los aminoácidos esenciales. Además, los carnívoros y los omnívoros hacen uso de varias proteínas animales para obtener los aminoácidos esenciales. La principal razón para la incapacidad de los animales para sintetizar esos aminoácidos es la falta de alfa cetoácidos apropiados para la transaminación.

La biosíntesis de los aminoácidos no esenciales en los tejidos de los mamíferos requieren precursores disponibles principalmente del metabolismo de carbohidratos. Estos pueden ser divididos en tres importantes grupos: A) Serina, glicina y cisteína, derivados de ácido fosfoglicérico, B) ácido glutámico, arginina, prolina e neuroxilprolina, derivados de alfa cetoglutámico, y C) alanina y ácido aspártico y derivados de ácido pirúvico.

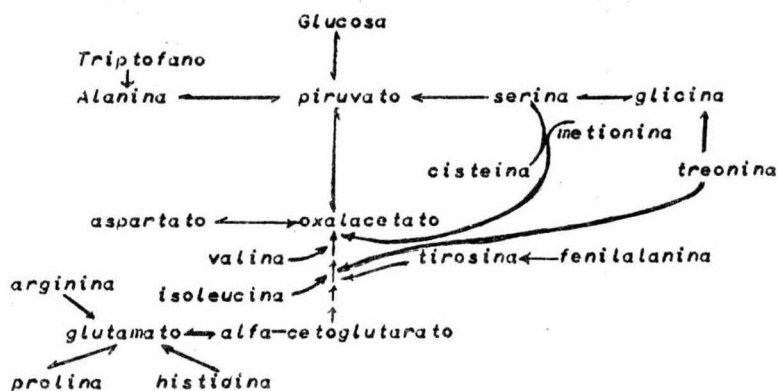


Figura 12. Gluconeogénesis de aminoácidos.

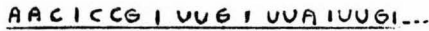
Síntesis de proteínas (52, 53).

La transmisión de la información genética tiene lugar en dos pasos principales. El primero consiste en transcribir el mensaje codificado en el ácido desoxirribonucleico (ADN) al ácido ribonucleico mensajero (ARN). Las letras del código del ADN son las cuatro bases: adenina (A), timina (T), guanina (G), y citocina (C). Los enlaces de hidrógeno entre las bases complementarias A-T y G-C mantienen unidas entre sí las dos cadenas de la molécula de ADN. Las cadenas que corren antiparalelamente, están constituidas por unidades alternantes del azúcar desoxirribosa y de fosfato. Las letras del código de ARN mensajero son, con excepción del uracilo (U), que reemplaza a la timina, las mismas que están asociadas con la molécula de ADN. En el ARN el azúcar es la ribosa. En el segundo paso del proceso, el ARN mensajero es traducido a proteína. Las letras del código del ARN mensajero son leídas en tripletes o codones, cada uno de los cuales especifica uno de los veinte aminoácidos que integran las moléculas de proteínas. Para que cada aminoácido sea incorporado a la cadena polipéptica se necesita ARN de Transferencia, el cual transporta los aminoácidos y es específico para cada uno. Todos ellos parecen contener las bases ACC en el lugar en que se une el aminoácido y G en el extremo opuesto. Para la unión del aminoácido se requiere de una enzima específica y energía que es suministrada por el adenosintrifosfato. Las bases no apareadas en el ARN de transferencia "reconoce" el lugar en el que ha de situar el aminoácido unido a él. De esta manera se va formando la cadena polipeptídica. Ver Figura 13.

TRANSCRIPCION



ADN



mARN

TRADUCCION

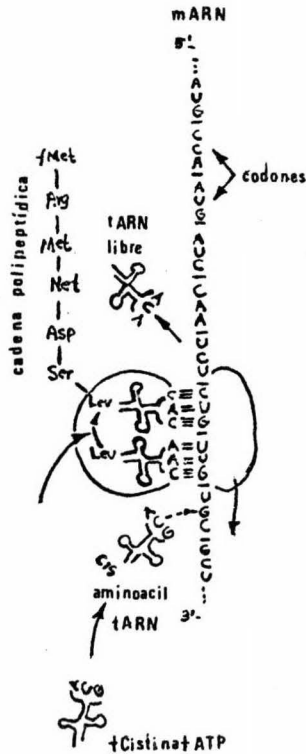


Fig. 13 ETAPAS DE LA SINTESIS DE PROTEINA

Ruta de los aminoácidos.

Ya se mencionó que los aminoácidos sufren una gran variedad de reacciones. Algunas de las más significativas incluyen la síntesis de proteínas, formación de hormonas y producción de compuestos especiales tales como derivados de la desintoxicación, cuerpos cetónicos, hormonas no peptídicas, glutamina y muchos otros.

Los aminoácidos derivados de proteína son finalmente convertibles a acetilCoA o en intermediarios del ciclo del ácido tri-carboxílico. Aquellos aminoácidos que pueden convertirse en α -cetoglutarato y oxalacetato, respectivamente, y por último dar glucosa, a esta función de los aminoácidos se le llama glucogénica.

En la tabla se encuentran los aminoácidos que son glucogénicos en mamíferos (36).

Destino de los aminoácidos.

Glucogénicos

Alanina	Prolina
Arginina	Serina
Aspartato	Treonina
Cistina	Triptofano
Glicina	Valina
Histidina	Acido glutámico
Metionina	

Cetogénicos

Leucina

Glucogénicos y cetogénicos

<i>Isoleucina</i>	<i>Lisina</i>
<i>Fenilalanina</i>	<i>Tirosina</i>

La leucina no puede dar formación neta de glucosa en vertebrados, donde todos sus átomos de carbono son convertidos también en en acetyl CoA o CO₂.

Los aminoácidos cetogénicos son aquellos que forman cuerpos cetónicos.

SINTESIS DE PROTEINAS EN EL RUMEN.

Una vez revisada la importancia de las proteínas en la dieta de los rumiantes y las generalidades de su metabolismo, a continuación consideramos algunos aspectos de la síntesis de proteínas en el rumen.

La posibilidad de convertir el nitrógeno no proteico a proteína fue sugerida por Zunts y Hagemann en 1891 (3). En trabajos recientes se ha demostrado plenamente que la síntesis es una función de la actividad microbiana del rumen. Las reacciones de desintegración, fermentación y autólisis de microorganismos proporcionan continuamente péptidos, aminoácidos, amoníaco y todos los elementos necesarios para la síntesis de proteínas microbianas — que a su vez son aprovechadas por los rumiantes (35).

La mayoría de los trabajos experimentales han sido dedicados a encontrar condiciones óptimas para alimentar con urea y sólo se ha obtenido información indirecta acerca de la síntesis de las proteínas. Las pruebas de la síntesis de las proteínas han sido obtenidas en varias formas, entre ellas la medición en los cambios de concentración de amoníaco y proteínas en el contenido ruminal al dar urea en la reacción.

La urea es hidrolizada en el rumen en amoníaco y dióxido de carbono (35). Se ha encontrado una velocidad de hidrólisis de 13 micromoles por hora en experimentos in vitro, esta hidrólisis se efectúa por bacterias ureolíticas con su enzima ureasa que actúa a bajas concentraciones.

El amoníaco que es producido durante la hidrólisis de proteínas o la degradación de las moléculas nitrogenadas se ha encontrado que alcanza niveles de 0 a 130 mg en 100 ml (35), encontrándose la máxima concentración a las cuatro horas.

Muchas de las bacterias del rumen asimilan de preferencia a aminoácidos (35). Pero en numerosos estudios se observa que el amoniaco (usualmente dado como urea) puede ser asimilado por el animal por previa asimilación de los microorganismos. Estudios con N^{15} (9) in vivo, se ha demostrado la incorporación de amoniaco y aminoácidos por las bacterias del rumen en ovejas.

Las bacterias del rumen contienen aproximadamente 65 % de proteína, basado en el contenido total de nitrógeno, este valor no es afectado apreciablemente por los alimentos comunes (60).

El contenido de nitrógeno en los protozoarios es bajo comparado con el de las bacterias, en cambio su contenido en polisacáridos es mayor (3). De donde la proteína microbiana constituye la mayor parte del alimento nitrogenado para los rumiantes y su valor para la síntesis de tejidos mamíferos llega a ser importante.

La síntesis de aminoácidos esenciales de fuentes de nitrógeno no fue asumida después que esas fuentes de nitrógeno fueron reemplazadas por proteína. Así en corderos con una dieta de 25 % de azúcar de maíz, almidón de maíz, 20 % de celofan, 5 % de minerales, 4 % de manteca y 4 % de urea y se demostró que fueron formados: arginina, histidina, isoleucina, leucina, lisina, metionina, fenilalanina, treonina, triptofano y valina, (35).

Requerimientos de amoniaco de muchas bacterias indican la capacidad de síntesis de aminoácidos.

De los aminoácidos requeridos por el rumiante: lisina, leucina, isoleucina y fenilalanina están en mayores concentraciones en la proteína de protozoarios; metionina y valina son ligeramente mayores en la proteína bacteriana, tirosina e histidina están en la misma proporción en ambos.

La proteína bacteriana ha sido distinguida de la proteína de las plantas y de los protozoarios (35) midiendo la cantidad del ácido 2, 6-diaminopimélico (35). Este componente de la pared celular de muchas bacterias y algas azul-verde no se presenta en animales y plantas superiores (35).

UTILIZACION DE NITROGENO NO PROTEICO.

La urea como fuente de nitrógeno no proteico es hidrolizada por la acción de la enzima ureasa de los microorganismos del rumen como se mencionó anteriormente; el 50 % está presente después de 4.5 horas y el 13 % después de 12 horas. La absorción del amoníaco del rumen fue estimado en 2.4 mmoles por hora. La secreción salival contiene 0.3 mmoles de nitrógeno ureico; el nitrógeno ureico que entra en el rumen de la oveja ha sido estimado en 1.5 g por día, aproximadamente 700 mg entran con la saliva (35).

La pérdida de nitrógeno como urea disminuye marcadamente cuando el nitrógeno en la ración es limitante y la entrada de agua es restringida (35).

Lewis (39) encontró que la concentración de la urea en la sangre varía de acuerdo al nivel de proteína en la ración.

La asimilación de compuestos nitrogenados simples por los microorganismos depende de dos factores en la alimentación: 1) la cantidad de carbohidratos disponibles y 2) la falta de nitrógeno complejo en el alimento (48). En esas circunstancias los rumiantes reciben una ración conteniendo todos los elementos excepto proteína y con suficiente carbohidrato digestible, con lo cual hay una asimilación neta del nitrógeno uréico. Se ha observado que la urea es menos tóxica con almidón en la dieta (58). Se piensa que el almidón da carbohidratos fermentables rápidamente con lo cual se facilita la síntesis de proteína microbiana. Sin embargo dietas de almidón y melasas también producen una disminución de ureasa en el rumen (61).

El efecto de varios carbohidratos sobre la utilización de -

la urea ha sido objeto de varios estudios in vitro en muchos países (5,6). Esos estudios in vitro, acoplados con experimentos en ternero y el crecimiento de novillos, (33, 59); producción de leche (47, 50, y balance de nitrógeno (12, 13) son las bases para prescribir la cantidad de carbohidrato necesario para la máxima utilización del nitrógeno no proteico en ganado. La cantidad necesaria aproximada es de un kilogramo de carbohidrato fermentable por 100 g de urea en un animal adaptado. Pero dos terceras partes de carbohidrato fermentable debe ser almidón. La proporción de almidón en el alimento no puede reducirse sin que se presente una notable disminución en la producción de leche (57).

Mezclas de minerales de varias clases fueron encontradas para estimular la conversión de urea a proteína microbiana (8, 11), siendo el fósforo, probablemente, el mineral más importante en muchas raciones que contienen urea.

El límite para el nitrógeno no proteico total en la ración es aparentemente 0.45 g por kilogramo de peso (19).

Otras fuentes de nitrógeno como sulfato de amonio, carbonato de amonio, han sido usadas para substituir parte del nitrógeno (33, 49, 44, 51, 54).

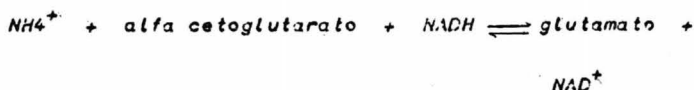
Para hacer mejor accesible el uso de nitrógeno ureico, la alimentación con urea debe ser planeada tanto que la concentración de amoniaco en el rumen esté próxima al nivel considerado como el óptimo para el crecimiento bacteriano, Chalupa (17).

La absorción de más de 5 milimoles por litro de amoniaco indica pérdida de nitrógeno (35).

Han sido utilizados muchos métodos con el objeto de reducir

la producción de amoníaco y aumentar la velocidad de utilización. Uno de los mejores es mezclar urea con concentrados o con todo el alimento y ofrecer *ad libitum*, aunque de esta manera no se controla la velocidad de ceder la urea. Uno de los métodos es la impregnación de mezclas secas de pulpa de remolacha enriquecida con urea. En los E. U. se ha desarrollado un alimento en el cual se une químicamente la urea al almidón gelatinizado, (8).

El amoníaco es tóxico porque trae como consecuencia aminación reductiva del alfa cetoglutarato en mitocondria, catalizada por la enzima glutamato deshidrogenasa.



El equilibrio de esta reacción está desplazada hacia la derecha, el amoníaco remueve el alfa cetoglutarato del ciclo de Krebs y causa severa inhibición en la respiración y un exceso de cuerpos cetónicos.

FERMENTACION DE LOS CARBOHIDRATOS EN EL RUMEN.

Las bacterias de muchos habitats pueden vivir anaeróbicamente de proteínas y de sus productos de hidrólisis para formar material celular, amoniaco, dióxido de carbono y ácidos grasos. Tales reacciones se llevan a cabo en el rumen con la producción de olores ofensivos debido a los compuestos reducidos de azufre y nitrógeno liberado de los aminoácidos, de los ácidos grasos volátiles (acético, propiónico, butírico, valérico e isovalérico), estos ácidos grasos abastecen de energía al animal (35). La conversión preliminar de las proteínas, carbohidratos y grasas de la dieta en acetyl CoA o en un intermediario del ciclo del ácido tricarbóxico, ver figura 15 (3).

El metabolismo de los carbohidratos en los rumiantes muestra diferencias notables del que se verifica en los animales monogástricos. Sólomente pequeñas cantidades de carbohidratos se absorben como tales en el tubo digestivo, la mayoría de los carbohidratos de la dieta fermentan en el rumen y generan ácidos grasos y éstos últimos son absorbidos rápidamente a través del rumen (3). Phillipson y Cuthbertson calcularon con los datos de Schambye, que de 600 a 1200 kilocalorías de energía, tal vez más, se absorben como ácidos grasos volátiles en el rumen de las ovejas, cada veinticuatro horas, de manera semejante, en los bovinos se ha demostrado que de 6000 a 12000 kilocalorías se obtienen de los ácidos grasos volátiles producidos por fermentación de los carbohidratos (3). La energía total consumida por ovinos y bovinos adultos en estado de ayuno es de unas 1100 a 6500 kilocalorías, respectivamente por día, lo cual indica que los ácidos volátiles forman la mayor fuente de energía que utiliza el animal para sus necesidades vitales.

La utilización de las proteínas, con sus transformaciones metabólicas, para la fermentación de los carbohidratos se evitó introduciendo caseína a nivel de duodeno, redundó en la mejor utilización del nitrógeno (3). Se demostró que si la caseína era elaborada para reducir la solubilidad y el tamaño de sus partículas, era menos atacable en el rumen y la utilización era mayor, medida con el nitrógeno. Con lo cual se puede observar que la fermentabilidad de los carbohidratos a través del metabolismo proteico — está directamente relacionada con la solubilidad.

IMPORTANCIA DE MEDIR LA SOLUBILIDAD DE LAS PROTEINAS EN EL RUMEN

La velocidad de digestión de las proteínas por las bacterias del rumen han sido correlacionadas con la solubilidad de las proteínas en solución salina y agua por El-Shazly, Blackburn, Hobson y Henderikx y Martin (35).

Las proteínas de las plantas son parcialmente solubles (35) pues algunas están asociadas con la fibra de la planta (35).

El problema de seguir la digestión de las proteínas es complicado por el hecho de que la proteína como alimento es digerida, resintetizada a proteína microbiana y las velocidades de los dos procesos no es fácil medir separadamente.

Johnson y col. (3) sugirieron que las proteínas de los alimentos en el rumen tienen valores biológicos como cuando se alimenta a los no rumiantes, por lo que se ha propuesto que las proteínas de baja solubilidad tienen valores más altos para rumiantes que las fuentes de nitrógeno soluble (3).

Esos puntos de vista están basados primariamente sobre datos en los cuales indican que las fuentes de nitrógeno altamente solubles son convertidas rápidamente a amoníaco en el rumen y el nitrógeno amoniacal puede ser perdido a través de la absorción ruminal (39). Sin embargo, los resultados de Johnson y col. (3), Burrouhs (11) y Belasco (7) indican que el suministro de nitrógeno no rápidamente disponible es esencial para una actividad óptima de la microflora ruminal.

El valor alimenticio de los materiales nitrogenados se esti

ma en términos de su verdadera digestibilidad y valor biológico.

Utilización neta = Valor biológico X verdadera digestibilidad

Verdadera digestibilidad =
$$\frac{N \text{ en el alimento} - (N \text{ en heces} - \text{metabólico}) \times 100}{N \text{ en el alimento}}$$

Nitrógeno metabólico es el nitrógeno fecal en una ración libre de nitrógeno, por ejemplo el nitrógeno del tejido perdido en las heces, Ellis y col. (35).

Valor biológico =

$$\frac{N \text{ del alimento} - (N \text{ fecal} - N \text{ metabólico}) - (N \text{ urinario} - N \text{ endógeno}) \times 100}{N \text{ del alimento} - (N \text{ fecal} - N \text{ metabólico})}$$

El nitrógeno endógeno es el nitrógeno urinario de un animal con una ración libre de nitrógeno. Valor biológico es el porcentaje del nitrógeno digestible asimilado y presumiblemente usado como proteína en el cuerpo. La diferencia entre nitrógeno urinario y nitrógeno endógeno representa el nitrógeno absorbido — que es excretado en lugar de crear células.

Little y col. (40) determinaron solubilidad del nitrógeno — por el método de Kjeldahl en líquido ruminal esterilizado, agua destilada y en solución de hidróxido de sodio 0.02 N, e incubados a 39 C con una corriente de CO₂ a pH 7, obteniéndose valores muy similares entre líquido ruminal y el agua para algunas proteínas, durante 4 horas de incubación.

Anwar y Clandinin (4) determinaron solubilidad del nitrógeno en NaCl 0.5 M, HCl 6 N e NaOH 0.02 N de col (Brassica campestris) y de nabo (Brassica napus), con lo cual trataron de determinar — cuál de los métodos de solubilidad daban los mejores estimados — de proteína total.

Se ha determinado la digestión in vitro por medio de técnicas anteriormente publicadas por Leroy y col. (37, 38), cuantificando el nitrógeno soluble total con ácido tricloroacético al — 10 % después de la digestión in vitro en presencia de líquido ruminal.

La hidrólisis ácida (HCl 6 N, durante 24 horas) de la digesta enzimática (pepsina y tripsina) de una muestra de torta de soya tratada con una dosis de 0.15 % de formol (que disminuye la — desaminación de 32. % a 2.9 % de esta proteína, o sea está dando — una protección del 90 %) libera 5.93 g de lisina / 16 g N, y la — muestra testigo no tratada libera en las mismas condiciones 6 g — (la diferencia es del 1.2 %); una dosis de 2.4 % de formol reduce, por otra parte a 24.5 % la cantidad de lisina total soluble — por el ataque pepsina—tripsina (21).

Se cree que la inestabilidad aparente asociada a las uniones aldehído—amida, guanidil o amina, puesto que la lisina e hidroxilisina son enteramente recuperables por la hidrólisis ácida.

Por otra parte el tratamiento de la gliadina de trigo con — glutaraldehído al 5 % y al hacer la identificación de los aminoácidos reactivos permitieron a Ewart (26) notar que la hidrólisis ácida permite recuperar sólo 46 % de la lisina y 53 % de — la tirosina original, los otros aminoácidos prácticamente no son afectados.

INSOLUBILIZACION DE LAS PROTEINAS.

La proteólisis y la desaminación de las proteínas de la dieta en el rumen por los microorganismos, puede disminuirse protegiendo estructuralmente la proteína del ataque microbiano. Algunos investigadores han sometido a las proteínas a diferentes temperaturas, recubrimientos con taninos u aldehídos como formaldehído, glioxal y glutaraldehído y de la combinación de tratamientos con taninos y calentamiento o formando pelets, para de esa manera, lograr su modificación estructural y en consecuencia, — disminuir su solubilidad.

Técnicas de insolubilización.

La insolubilización de las proteínas tiene por objeto que la proteína no sea metabolizada por los microorganismos del rumen, — es decir, transformada a proteína microbiana, ya que este proceso impide la llegada de la proteína original a nivel del intestino en donde es metabolizada como en los animales monogástricos. La transformación a proteína microbiana está en función del tiempo y este metabolismo intermediario cuando la proteína es muy soluble trae como consecuencia la pérdida de nitrógeno y lo que se quiere lograr con la insolubilización es que la proteína original llegue a nivel intestinal en un alto porcentaje y mantener las funciones de la flora ruminal, es decir, producción de proteína microbiana, que también es aprovechada por el rumiante, ácidos grasos volátiles, especialmente ácido propiónico por ser glucogénico y la producción de vitaminas.

a) Recubrimiento con taninos.

Los taninos nativos y proteínas de numerosos frutos y de ci

ertos granos, forman complejos casi insolubles e inasimilables tanto por el rumiante como para el monogástrico; los cuales actúan como depresores de la digestibilidad nitrogenada y del crecimiento (20, 46, 34, 27, 29).

Zelter y col. (62) utilizaron un extracto de castañas (Castanea sativa) para recubrir torta de cacahuete, soya, lino, col, girasol, polvo de leche descremada, caseína según Hammarsten A y B, caseína láctica, harina de alfalfa deshidratada.

El extracto de castañas es un polvo fabricado industrialmente, el cual contiene de 60 a 70 % de tanino puro, y que posee una estructura pirogalítica.

La tecnología del recubrimiento se realizó de la siguiente forma: al alimento finamente pulverizado y homogenizado se le adicionó, progresivamente según su naturaleza, de 2 a 5 veces su peso en volumen de una solución de tanino y se mezcló perfectamente hasta la obtención de una masa homogénea y flexible. Se dejó en reposo de 16 a 20 horas a temperatura ambiente a fin de favorecer la fijación de ésta última sobre la proteína y la hinchazón de la misma. La absorción de la fase líquida por la masa debe ser total.

La pasta se secó después a 80 C (62). La metodología experimental de la digestión in vitro y las técnicas analíticas fueron comunicadas por Leroy y col. (37).

Las proteínas de cacahuete y de girasol no tratadas son desaminadas aproximadamente 60 %. Su protección total exige una dosis mínima de 15 % de extracto de castañas, col 12 %, soya 8 %, lino 6 %, polvo de leche 16 %, harina de alfalfa no presenta variación de solubilidad antes y después del tratamiento con diversas dosis de taninos. Las cuales se incuban con líquido ruminal du-

rante 15 horas y se observa una disminución de proteólisis. En estudios in vivo se observa que la velocidad de amoniogénesis en el rumen se reduce, tanto en soya, cacahuate el nitrógeno soluble no amoniacal. Los ácidos grasos volátiles totales reportados en milimoles en cacahuate de 656 baja a 606 y en soya de 582 a 537.

Leroy y Zelter (62) reportaron el porcentaje de ácidos grasos volátiles:

	c	ct	s	st
Acido acético	69.4	72.4	69	71.3
Acido propiónico	18.9	20.5	18	18.1
Butírico	11.7	7.1	13	10.6

c=cacahuate; ct=cacahate tratado

s=soya; st= soya tratada

El polvo de leche presenta una ligera reuucción del nitrógeno amoniacal, nitrógeno soluble y producción de ácidos grasos volátiles.

Se presenta una retención de nitrógeno con el régimen tanado de 16.1 a 23.6 % en promedio.

La utilización práctica fue de 11.6 % en el no tanado y de 16.1 % en el tanado, Delort-Laval y col. (22).

Estudios in vitro con ácido tánico (Allepo tannin) al 10 % dieron como resultado el 90 % de la disminución en la desaminación de harina de soya. La digestión con pepsina de la soya curtidada no se afecta por el nivel ni el tipo de tanino, sin embargo la digestión con pancreatina de la proteína disminuyó significativamente con el aumento de los niveles de tanino (23), obteniéndose un aumento de peso en los animales estudiados.

b) Tratamiento por calentamiento.

Glimp y col. (31) realizaron pruebas de crecimiento, digestibilidad y retención de nitrógeno de la proteína tratada con calor a 140 C durante 4 horas, lo cual redujo su solubilidad en 72 a — 35 %.

Se ha tratado el gluten de maíz a 110 C durante 24 horas con calor seco, lo cual redujo considerablemente la producción de proteína soluble en estudios in vitro (40).

Chalmer y col. (14, 15, 16) han tratado proteínas a base de calor, con lo cual se esperaba una solución lógica, pero una denaturalización excesiva podría dar una disminución de digestibilidad, sino a una destrucción más o menos parcial de los aminoácidos esenciales, especialmente la lisina (15).

La disminución de la solubilidad de la proteína por tratamiento de calor ha resultado en un aumento en la retención del nitrógeno y una disminución de la digestión intrarruminal de la dieta proteica (14, 40).

El calentamiento de la soya redujo los niveles de los ácidos isovalérico y valérico en el rumen después de 3 horas. Lo cual — soporta la sugestión hecha por Chalmers y col. (14) que la reducción de la solubilidad de la proteína de soya por calentamiento — disminuye la velocidad de degradación intrarruminal de la proteína (31).

El peleteo puede reducir la velocidad de degradación de la proteína en el rumen, se obtiene una respuesta similar a la que — se observa en ensayos reportados en este estudio (31).

Zelter y col. (62) trataron diversos alimentos combinando el tratamiento de taninos y calor para reducir la solubilidad de las proteínas.

c) Tratamiento con aldehidos.

La posibilidad de proteger las proteínas de la desaminación bacteriana en el rumen con sustancias curtientes sintéticas como el formaldehído, glutaraldehído y glioxal. Se ha estudiado in vitro en líquido ruminal la solubilidad de las proteínas curtidas por Zelter y col. (62). Los alimentos tratados fueron torta de cacahuete, soya, lino, col, girasol, polvo de leche descremada, caseína, y harina de alfalfa deshidratada.

Se determinó la dosis mínima para cada alimento de los aldehidos que suprimen totalmente la degradación de la proteína considerada, el grado de reversibilidad enzimática in vitro del complejo proteína-aldehído con pepsina, el efecto de la proteína compleja sobre el poder celulolítico del inóculo del rumen.

Determinaron que la dosis mínima de cada sustancia curtiente que asegura una protección íntegra está en función de las propiedades fisicoquímicas originales y del tratamiento térmico a que se somete la proteína.

La dosis mínima de cada uno de los aldehidos experimentados que aseguran un 100 % de protección deprimen sensiblemente el poder celulolítico del inóculo del rumen de 9 a 17 % en la paja de trigo.

La dosis de aldehidos que aseguran un 90 % la protección no afectan prácticamente el poder celulolítico (3 %).

Es importante tener en mente que las proteínas complejas por esta categoría de curtientes: deben ser estables en medio ruminal y liberado por las enzimas digestivas proteolíticas que actúan a nivel del retículo (pepsina) o de duodeno (tripsina, quimotripsina y carboxipeptidasas) no deben reducir las actividades metabólicas indispensables de la flora ruminal y deben ser inócuas para el animal.

La inhibición de la desaminación de la proteína de cacahuete fue con una dosis de 0.6 % de formol y de 1.5 a 1.8 % de glioxal o de glutaraldehído.

La soya y el polvo de leche son menos vulnerables a las desaminasas bacterianas tratadas con formol (0.3 %), la caseína exige una dosis de 1.2 % de formol.

La dosis mínima de los aldehídos que corresponden al umbral o desaminación de la torta de cacahuete oprimen sin embargo fuertemente la actividad celulolítica del inóculo del rumen (9 a 17%). La accesibilidad del complejo a la pepsina apenas es afectada después de tratar con formaldehído o glioxal; solamente el glutaraldehído disminuye 5 % en estudios *in vitro* e *in vivo* (62).

Las celulasas de la microflora ruminal manifiestan más sensibilidad al estado de la substancia curtiente que a su estructura, en muchos de los microorganismos, las celulasas están unidas a sus superficies extracelulares (30). Una fracción más importante de estas enzimas es elaborada directamente en el rumen por un sistema típicamente independiente, esto explicaría la existencia, en el líquido ruminal de celulasas solubles (32). Las substancias curtientes libres podrían muy bien complejar las bacterias celulolíticas saprófitas del rumen, por absorción en superficie y por penetración al interior del cuerpo bacteriano y reaccionarían sobre ciertos componentes protoplasmáticos, reduciendo la viabili-

dad, el crecimiento, la morfología y la actividad enzimática de esta microflora (34).

La acción protectora ejercida por el formol en la caseína es confirmada en estudios in vitro e in vivo por Ferguson y col.(28).

CAPITULO III

MATERIALES Y METODOS.

Se tomaron alimentos ganaderos en existencia en el Rancho — "Cuatro Milpas" de la U.N.A.M. y de otros lugares, con el objeto de estudiar la solubilidad del nitrógeno, porque representan de una manera general los alimentos más frecuentes que se dan al ganado en México. Su contenido en proteína en muchos de ellos es alto y se quiso determinar in vitro que tan soluble es cada uno, para de esta manera ver la posibilidad de tratar de proteger esa proteína para su mejor aprovechamiento para el animal, sin pérdida de nitrógeno y como resultado una mejor producción de carne, — leche, y sus derivados.

Muestras del Rancho "Cuatro Milpas" de la U.N.A.M.:

1. Trigo (Triticum durum).
2. Salvado de trigo.
3. Germen de trigo.
4. Sorgo (Sorghum vulgare).
5. Gluten de maíz (Zea maize).
6. Harina de alfalfa (Medicago sativa).
7. Pasta de coco (Cocos nucifera).
8. Levadura de cerveza (Saccharomyces cerevisiae).
9. Cebada (Hordium vulgare).
10. Pasta de nabo (Brassica rapa).

11. Linaza (Fam. Linaceae).

12. Galleta (Las muestras 11 y 12 de la Granja Trini).

Materiales de Quintana Roo:

13. Harina de Chaya (Fam. de las Euforbiáceas).

14. Harina de Ramón (Fam. de las Euforbiáceas).

Muestra regalada al Instituto de Investigaciones Biomédicas.

15. Harina de páncreas.

Reactivos:**a) Solución Saliva Artificial (55)****Ingredientes para 2 litros:**

Bicarbonato de sodio	19.60 g
Fosfato dibásico de potasio trihidra tado	14.00 g
Cloruro de potasio	1.14 g
Cloruro de sodio	0.95 g
Sulfato de magnesio con siete moléculas de agua	0.24 g
Urea	1.83 g
Glucosa	1.83 g

b) Mezcla reactiva de selenio:

Sulfato de potasio	200.00 g
Sulfato de cobre	20.00 g
Oxido de selenio	5.00 g

c) Hidróxido de sodio 0.1 N**d) Acido clorhídrico 0.1 N****e) Hidróxido de sodio al 50 %****f) Acido sulfúrico concentrado****g) Fenolftaleína****h) Rojo de metilo**

Substancias:

1. Bicarbonato de sodio (Lote 45082).
2. Acido clorhídrico (lote 26014).
3. Hidróxido de sodio (lote 44460).
Todos ellos de J.T. Baker, S.A.
4. Fosfato dibásico trihidratado (lote 70144255).
5. Sulfato de magnesio heptahidratado (lote 144-6432).
6. Urea (lote 3671948).
7. Glucosa (lote 2663448).
Estos reactivos de Merck.
8. Cloruro de sodio (lote 2J129).
9. Cloruro de potasio (lote) Millinckrodt.
10. Sulfato de potasio.
11. Sulfato de cobre.
12. Fenolftaleína.
13. Rojo de metilo.
14. Oxido de selenio.
Estos últimos de Merck.

Cristalería en general:

1. Matraces Kjeldahl de 800 ml
2. Matraces Erlenmeyer de 50, 250 y 500 ml
3. Vasos de precipitados de 250 y 3000 ml
4. Probetas
5. Buretas de 50 ml
6. Pipetas volumétricas de 5, 10 y 50 ml
7. Embudos de filtración
8. Matraces volumétricos de 100 y de 1000 ml
9. Ampula de Kjeldahl

Aparatos:

1. Baño de incubación
2. Potenciómetro (Beckman)
3. Balanza analítica
4. Balanza granataria
5. Estufa
6. Aparato de Kjeldahl: parrilla, extractor y destilador, Laboratory Construction Company Kansas City Missouri, U.S.A. No. 2730.
Características eléctricas: 120-208 volts
60 ciclos.
7. Molino de mano (Bartolomé)
8. Refrigerador
9. Congelador
10. Mallas de cobre con las siguientes características:
 - A. Malla No. 20, número de alambres 27, abertura 0.66 mm, área abierta 46.2 %.
 - B. Malla No. 40, número de alambres 31, abertura 0.38 mm, área abierta 36 %.
 - C. Malla No. 100, número de alambres 42, abertura 0.15 mm, área abierta 36 %.

Otros:

11. Papel filtro Whatman No. 41
12. Termómetro
13. Parafilm

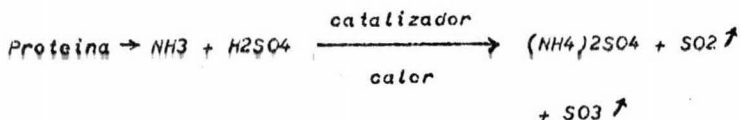
Metodos1) Determinación de proteína por el Método de Kjeldahl.

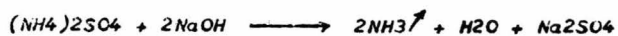
Determinar primero el porcentaje de humedad, pesando una muestra de 3 a 5 g y manteniendo a 100 C durante 24 horas.

Para determinar porcentaje de proteína: pesar de 0.5 a 1 g de muestra, en base húmeda o seca, y colocarla en un matraz Kjeldahl de 800 ml, 3 g de mezcla reactiva de selenio, piedras porosas para controlar la ebullición y 20 ml de ácido sulfúrico concentrado. Someter a calentamiento hasta que quede una solución casi incolora.

Dejar enfriar y añadir lentamente 400 ml de agua destilada por la pared del matraz, inclinando aproximadamente 45 grados. Agregar de 3 a 5 gotas de fenolftaleína en solución al 0.1 % y 60 ml de hidróxido de sodio al 50 %, tapar inmediatamente el matraz y agitar; pero antes de agregar el hidróxido de sodio al 50 % se prepara un matraz Erlenmeyer de 500 ml con 25 ml de ácido clorhídrico 0.1 N con 3 o 5 gotas de Rojo de Metilo. Una vez que está preparado todo encender la parrilla o mechero y el sistema de refrigeración. El destilado debe burbujear para evitar pérdidas de amoníaco. Destilar un volumen de 300 ml. Titular con solución de hidróxido de sodio 0.1 N.

Reacciones:





El porcentaje de proteína se determina por medio de la fórmula:

$$\%N = \frac{(N_{HCl} \times V_{HCl} - N_{NaOH} \times V_{NaOH}) \times \text{Equiv. del nitrógeno} \times 100}{\text{peso de la muestra (mg)}}$$

$$\% \text{ de nitrógeno} \times 6.25 = \% \text{ de proteína}$$

El porcentaje de nitrógeno obtenido se multiplica por el factor 6.25 (100 / 16) para obtener el porcentaje de proteína.

2) Método para la determinación de granulometría.

La granulometría se efectuó para caracterizar físicamente las muestras que se suministran al ganado y sobre todo para nuestro estudio.

La forma en que se llevó a cabo el muestreo, fue considerando la raíz cuadrada de las existencias. Sólomente las muestras de harina de Ramón y de Chaya, galleta, linaza y harina de páncreas se les determinó tamaño de partícula. Las muestras que venían en forma de grano o terrones se molieron.

Forma física original de cada alimento:

Harina de páncreas	granulitos
Harina de alfalfa	polvo
Levadura de cerveza	hojuelas y polvo
Germe de trigo	hojuelas
Harina de Ramón	Hojuelas y polvo
Harina de Chaya	hojuelas y polvo
Cebada	grano
Sorgo	grano
Trigo	grano
Pasta de Nabo	terrones
Pasta de coco	terrones
Linaza	terrones.

El tamaño de partícula fue medido con mallas de cobre de los números: 20, 40 y 100.

El cernido se realizó a mano durante 3 minutos y la cantidad residual, en cada malla, se pesó y se realizó en forma porcentual.

3) Determinación de nitrógeno soluble.

Se pesan exactamente 5 g de alimento en base húmeda y se agregan 50 ml de solución saliva artificial (55), se ajusta el pH correspondiente con ácido acético glacial reactivo analítico o con hidróxido de sodio concentrado (al 50 %).

Llevar a baño de 39 C \pm 0.5 durante 4 horas. Agitar cada media hora durante 10 segundos, una agitación por segundo con varilla de vidrio. Después de la incubación filtrar a través de papel filtro Whatman No. 41 y enjuagar el residuo insoluble con 20 ml de solución saliva artificial. El filtrado se puede guardar en el congelador durante 2 días. Se descongela y se toma una alícuota de 10 ml y se determina el porcentaje de nitrógeno por el método de Kjeldahl.

El cálculo de porcentaje de nitrógeno se efectúa de la siguiente manera:

$$\text{alimento} \quad - \quad \text{solución saliva} = Y$$

$$a) ((V_{HCl} \times N_{HCl}) - (V_{NaOH} \times N_{NaOH})) - ((V_{HCl} \times N_{HCl}) - (V_{NaOH} \times N_{NaOH}))$$

$$b) \frac{Vt \times Y \times \text{Meq N} \times 100}{\text{alícuota}} = \% \text{ de N} \times 6.25 = \% \text{ de proteína en la solución}$$

$$c) \frac{\% \text{ de proteína en la solución} \times 100}{\% \text{ de proteína en el alimento} \times \text{peso de la muestra en g}} = \% P.S.$$

% P.S. = porcentaje de proteína soluble

Normalidad = miliequivalentes / ml

V_t = volumen total (ml)

A_t = alícuota (ml)

V = volumen (ml)

Factor = $\frac{100}{16} = 6.25$

Meq. N. = 0.014

CAPITULO IV

RESULTADOS

Concentración de proteína cruda (N X 6.25).

De las quince muestras estudiadas e indicadas en la tabla I, seis se clasificaron en el grupo I con una concentración elevada de proteína cruda (más de 30 %), es decir de nitrógeno multiplicado por el factor 6.25; de ellas sólo el harina de páncreas tiene disponibilidad muy limitada en el mercado nacional. El gluten de maíz, el germen de trigo y la levadura de cerveza son subproductos agroindustriales y la linaza es de interés para la industria aceitera.

En el grupo II, de mediana concentración proteica, se incluyeron muestras de harina de chaya y de ramón, por haber tenido cierto interés en algunos proyectos experimentales para la utilización de nuevos forrajes tropicales, pero aún no son alimentos de alta disponibilidad.

Cabe mencionar que la muestra de chaya aquí analizada tenía una concentración de 14 % de proteína, menor que las encontradas por la League for International Food Education, con fecha 25 de junio de 1973, humedad 81.1 % y proteína 6.19, en base seca contiene aproximadamente 33 %. Después se determinó el porcentaje de proteína por segunda vez en la planta fresca, en la cual se observan variaciones dependiendo si esta es chaya china con un 34 % y en chaya con espinas con 24 %; a éstas no se les determinó solubilidad por falta de muestra, pero las incluimos como referencia preliminar sobre las propiedades fisicoquímicas de esa clase de proteínas.

En el grupo III, de baja concentración proteica (menor del 15 %) se incluyó la pedacera de galleta como ejemplo de un desper-

dicio de la industria de alimentos y el sorgo, por su amplio uso ganadero.

TAULA I

RESULTADOS DE LA DETERMINACION DE % DE PROTEINA Y % DE HUMEDAD.

Muestra	% Proteina(base húmeda)	% de humedad
<i>Grupo I</i>		
Harina de páncreas	56.2	33.44
Lev. de cerveza	59.82	9.60
Pasta de nabo	41.87	5.40
Linaza	34.05	7.47
Germen de trigo	31.30	11.55
Gluten de maíz	29.70	9.16
<i>Grupo II</i>		
Pasta de coco	21.6	6.19
Harina de alfalfa	16.7	6.49
Harina de chaya	12.98	10.46
Harina de ramón	12.29	9.28
Cebada	11.35	10.90
Salvado de trigo	11.46	10.16
Trigo	11.10	8.85
<i>Grupo III</i>		
Sorgo	9.23	1.27
Galleta	8.15	11.19

Grupo I con un porcentaje de proteína mayor del 29 %

Grupo II con un porcentaje de proteína entre el 10 y el 29 %

Grupo III con un porcentaje menor del 10 % de proteína.

Granulometría de los alimentos ganaderos.

En la tabla 11 se observa que se encuentra una marcada heterogeneidad en la distribución de tamaños de partículas, la cual se puede apreciar mejor en las figuras 14 a la 28, que corresponden a los histogramas de distribución del tamaño de partículas, — sin embargo, se nota una tendencia de preponderar los tamaños — gruesos de partículas en las muestras de trigo, salvado de trigo, germen de trigo, sorgo, pasta de coco, cebada y pasta de nabo. Por otra parte, las muestras que presentan un alto porcentaje en partículas medianas son: alfalfa, harina de ramón, harina de chaya, linaza, galleta, y por último, las muestras que presentan un alto porcentaje de partículas finas son: gluten de maíz y levadura de cerveza.

La granulometría es indicada para comparación con otros estudios futuros y su correlación con la solubilidad es discutida en otra sección.

TABLA 11

GRANULOMETRIA DE DIVERSOS ALIMENTOS GANADEROS

Muestra y clase	% de partículas por tamaños			
	Diámetro	0.15	0.15-0.38	0.38-0.66
<i>Muestras con un alto porcentaje en partículas gruesas</i>				
Trigo	0.69	5.48	13.17	78.99
Salvado de trigo	0.90	1.6	23.20	73.80
Germen de trigo	—	2.43	7.82	89.46
Sorgo	0.39	7.67	16.43	74.80
Pasta de coco	—	9.52	40.64	49.84
Cebada	0.94	7.05	20.04	71.81
Pasta de nabo	0.16	10.98	37.23	51.52
<i>Muestras con un alto porcentaje en partículas medianas</i>				
Alfalfa	14.00	31.00	47.00	6.50
Harina de Ramón	6.55	14.04	29.51	49.01
Harina de Chaya	14.4	22.8	51.50	9.50
Linaza	4.42	18.34	40.08	35.72
Harina de páncreas	0.20	8.20	88.00	—
Galleta	0.13	16.47	49.99	33.84
<i>Muestras con un alto porcentaje en partículas finas</i>				
Gluten de maíz	9.29	39.10	38.06	13.00
Levadura de cerveza	9.41	45.78	23.22	19.94

Relación entre solubilidad proteica y el pH de la solución.

En la tabla III se indica en detalle los valores de solubilidad de cada muestra a los valores medidos de pH, pero el efecto del pH se ilustra mejor en las figuras 29 a 33, en donde las abscisas representan el pH y las ordenadas el porcentaje de solubilidad. Para ciertas muestras como la harina de ramón, alfalfa y pán creas, el pH influye poco sobre la solubilidad de la proteína cruda. En cambio, para otras como la linaza, levadura de cerveza y el germen de trigo el pH es un factor determinante en la solubilidad nitrogenada.

En las figuras 34 y 35 se ilustra la dispersión de los datos en relación con el tamaño de las partículas y su solubilidad nitrogenada y se ve que a pH 6.5 y 8.5 la dispersión es muy grande y no presenta una correlación estrecha entre solubilidad y tamaño de partícula. Dicho de otro modo, en nuestro estudio, el factor preponderante en cuanto a la solubilidad nitrogenada, parece ser la naturaleza de las muestras y menos importante el tamaño de partícula.

Tabla III

PROTEINA SOLUBLE EN ALIMENTOS GANADEROS

Alimento	% de solubilidad en base húmeda pH				
	6.0	6.5	7.0	7.5	8.5
Trigo	21.85	25.12	26.22	26.22	30.59
Salvado de trigo	34.38	30.49	35.64	40.35	38.57
Germe de trigo	41.84	32.54	28.28	25.95	25.95
Sorgo	23.65	14.45	15.76	15.76	15.76
Gluten de maíz	24.50	25.72	26.54	27.35	27.76
Pasta de coco	12.35	11.79	11.22	11.26	11.79
Harina de Ramón	32.56	35.52	38.48	34.53	42.43
Harina de alfalfa	27.52	26.86	26.50	27.59	31.22
Cebada	13.56	22.40	17.06	17.06	17.06
Linaza	00.87	3.92	5.96	7.99	11.02
Levadura de Cerveza	25.21	25.82	54.85	25.41	24.80
Harina de páncreas	31.80	24.46	28.13	25.11	24.89
Galleta	19.75	22.14	15.73	22.93	25.12
Pasta de nabo	18.93	23.75	29.54	35.04	37.70
Harina de chaya	53.40	42.72	38.83	43.69	48.54

Posibles efectos de la solubilidad sobre los costos de los suplementos proteicos.

Para estimar el efecto potencial de la solubilidad sobre los costos de la proteína cruda, se procedió a elaborar dos hipótesis. La hipótesis optimista consistió en estimar que el 25 % de la proteína solubilizada se perdía en forma de amonio o urea, a consecuencias de su desaminación en el rumen, $\alpha = 0.25$ y la hipótesis pesimista que la mitad de la proteína solubilizada, era eliminada por la desaminación ruminal ($\alpha = 0.50$). También se consideró la hipótesis nula, es decir que la desaminación no influye sobre el aprovechamiento de la proteína ($\alpha = 0.00$).

Con esas hipótesis se desarrolló una fórmula para el costo efectivo de la proteína cruda y que se explica en la Tabla IV. De esa manera se puede estimar el efecto económico de diversos valores de a y del porcentaje de solubilidad de la proteína (s) que se presentan en la Tabla III.

En la tabla IV se aprecia la importancia que tiene el determinar el porcentaje de proteína de un alimento ganadero, su solubilidad y su costo en el mercado, y en consecuencia el determinar su costo efectivo el cual va a estar determinado por su contenido proteico, solubilidad y su precio.

Se han clasificado en tres grupos dependiendo del incremento en porcentaje en el costo de la proteína. El grupo A con un incremento mayor del 20 %, v.gr. la chaya tiene un precio muy alto, bajo contenido proteico y alta solubilidad y su incremento es el más alto (26.9 %). En el grupo B, con un incremento del 10 al 20 % como en el caso del trigo con un precio intermedio con una solubilidad del 25 % y un contenido proteico del 11.10 %, su incremento en el costo es del 14 % y en el Grupo C el sorgo las variables anteriores son menores.

TABLA IV

COSTO EFECTIVO DE LA PROTEÍNA⁺ Y PORCIENTO DE INCREMENTO EN EL COSTO

Alimento	Precio \$/Kg	Ce ⁺			% Δ Ce ⁺⁺
		α = 0.0	α = 0.25	α = 0.5	
Grupo A					
Chaya	8.00	61.63 ⁺	68.96	78.27	26.9
Germen de trigo	2.50	7.96	8.69	9.91	24.1
Grupo B					
Cebada	1.85	16.29	17.27	18.37	17.1
Alfalfa	2.40	14.37	15.40	16.59	15.4
Gluten de maíz	2.00	6.73	7.19	7.72	14.7
Lev. de cerveza	3.50	5.85	6.25	6.71	14.7
Trigo	2.50	22.52	24.01	25.69	14.0
Grupo C					
Sorgo	2.00	21.66	22.49	23.36	7.8
Pasta de coco	2.00	9.25	9.53	9.68	6.8

⁺ Calculado con la fórmula $Ce = \frac{C \times 100}{P \left(1 - \frac{\alpha s}{100} \right)}$; donde C = precio

del alimento; P = % de proteína en base húmeda; s = % de solubilidad en base húmeda a pH 6.5; α = coeficiente de fermentabilidad (0.0 a 0.5)

⁺⁺ % de incremento en el costo efectivo = $\frac{(\alpha = 0.5 - \alpha = 0.0)}{\alpha = 0.0}$

Grupo A con un porcentaje de incremento mayor del 20 %; Grupo B de 10 a 20 % y Grupo C con un incremento menor del 10 % en el costo efectivo.

Gráficas que representan el Histograma de las muestras molidas

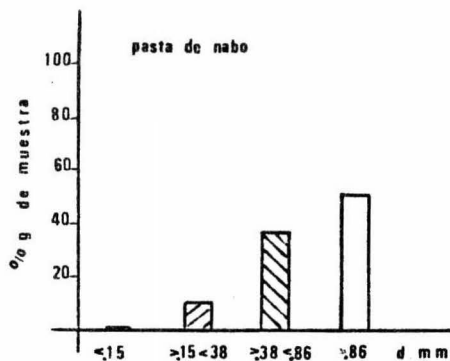


FIG 14

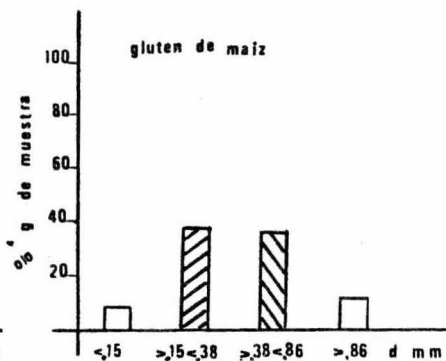


FIG 15

d = diámetro de las partículas

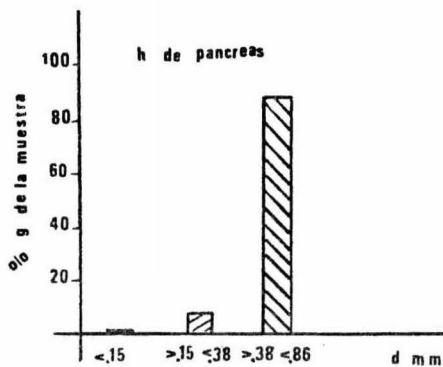


FIG 16

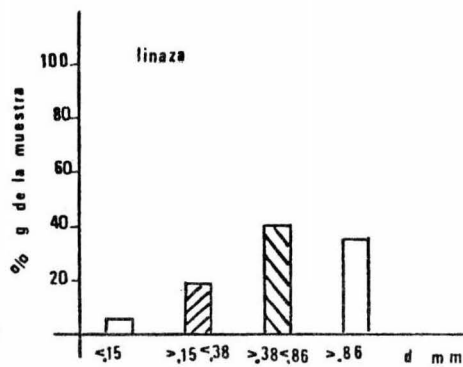


FIG 17

Gráficas que representan el Histograma de las muestras molidas

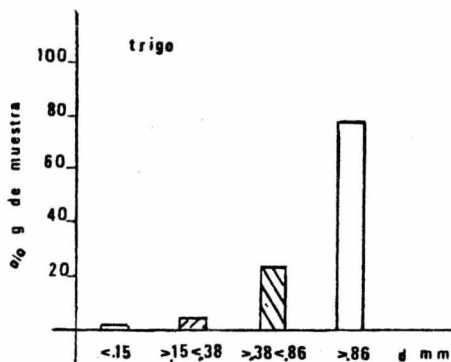


FIG 18

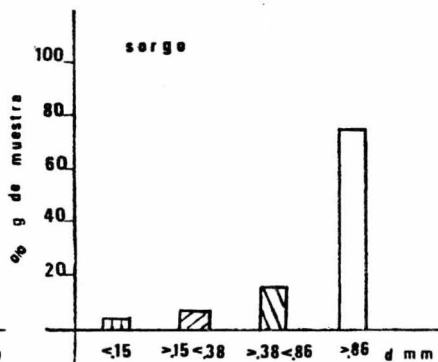


FIG 19

d = diámetro de las partículas

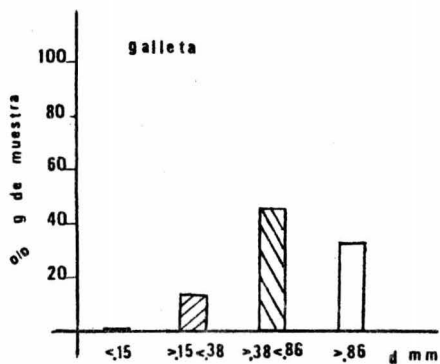


FIG 2.0

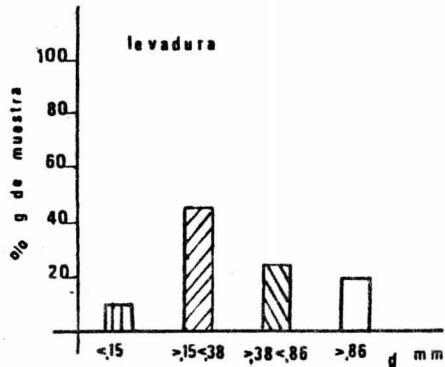


FIG 21

Gráficas que representan el Histograma de las muestras molidas

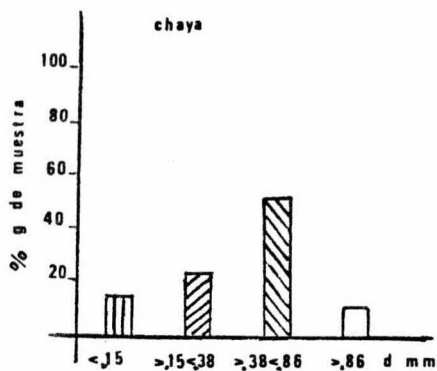


FIG 22

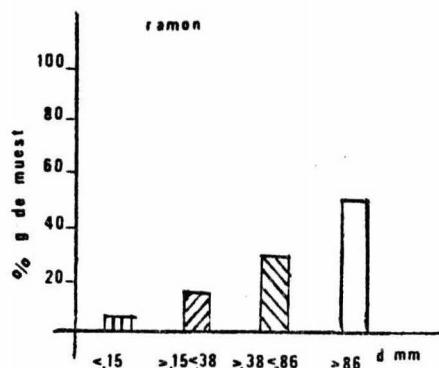


FIG 23

d = diámetro de las partículas

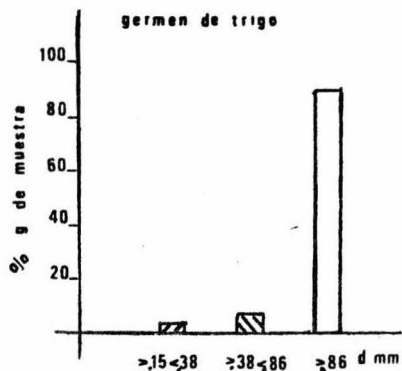


FIG 24

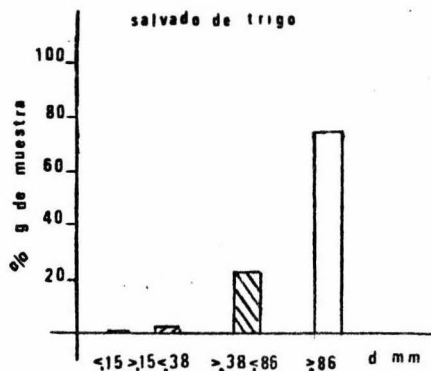


FIG 25

Gráficas que represen el Histograma de las muestras molidas

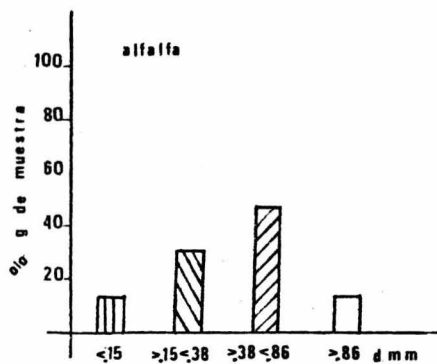


FIG 26

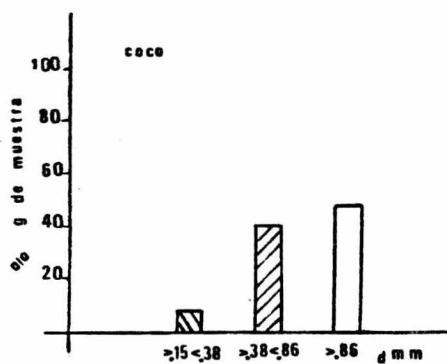


FIG 27

d = diámetro de las partículas

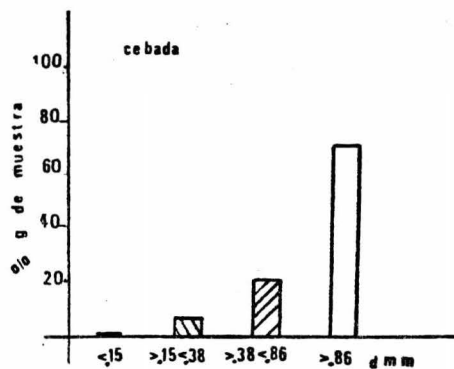


FIG 28

FIG 29

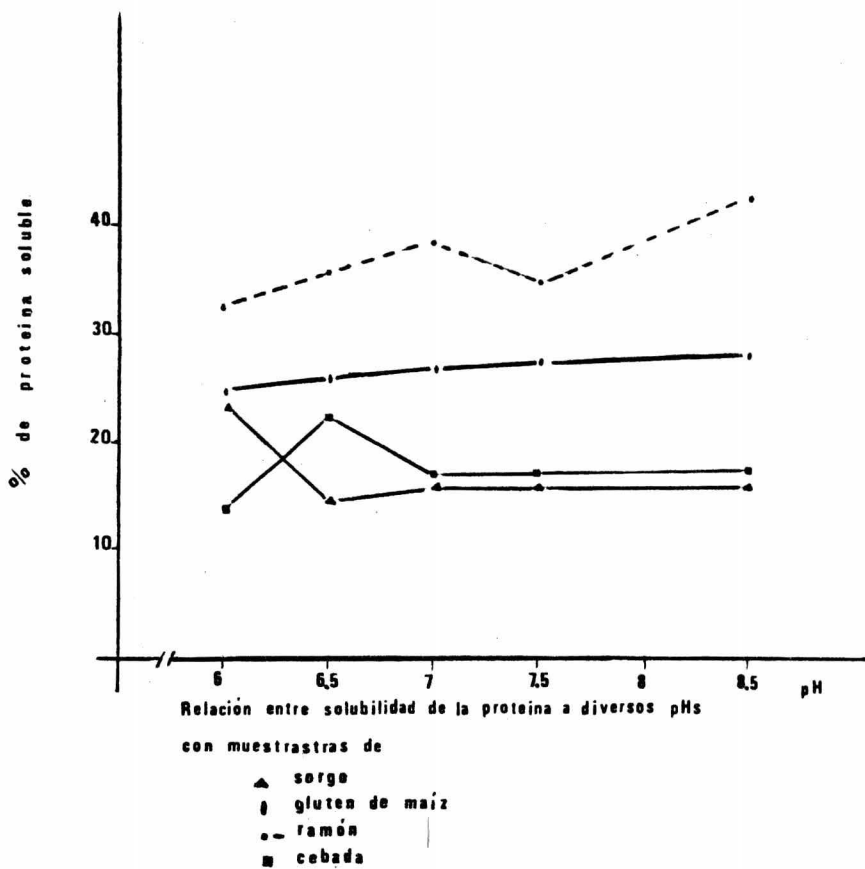
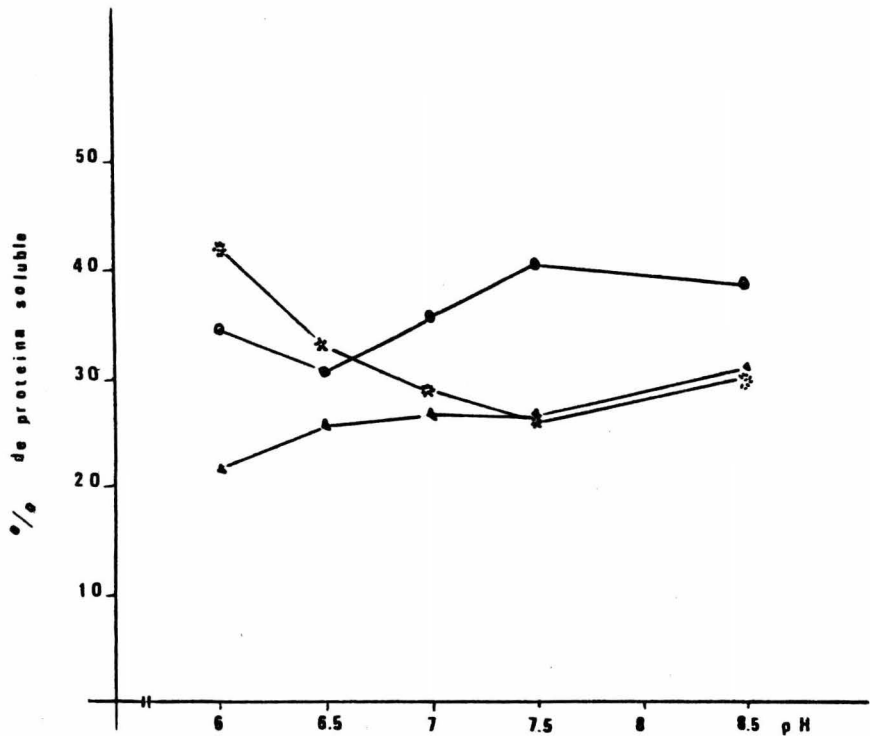


FIG 30



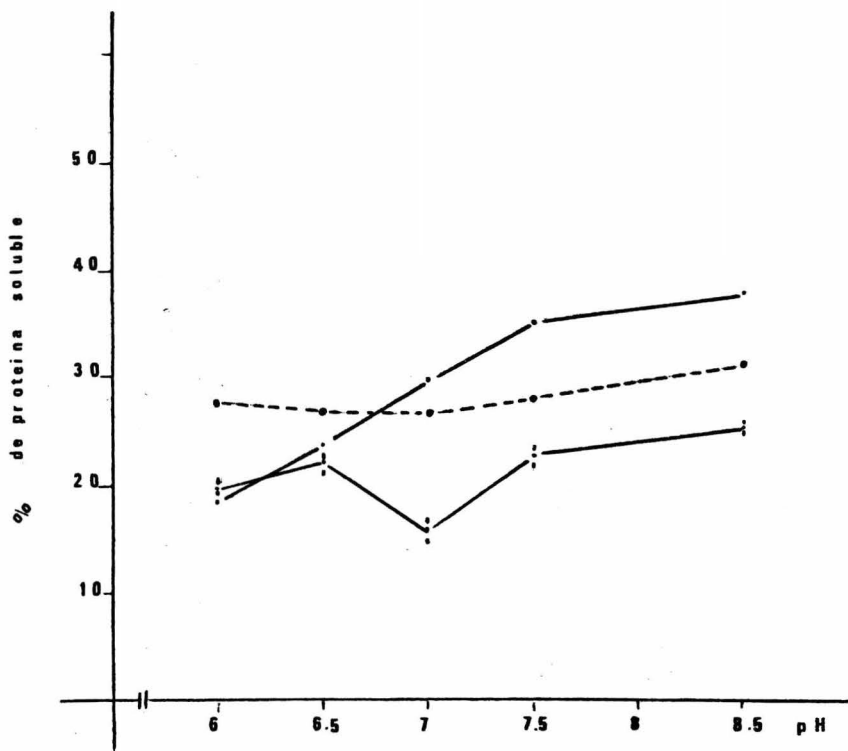
con muestras de

△ trigo

● salvado de trigo

* germen de trigo

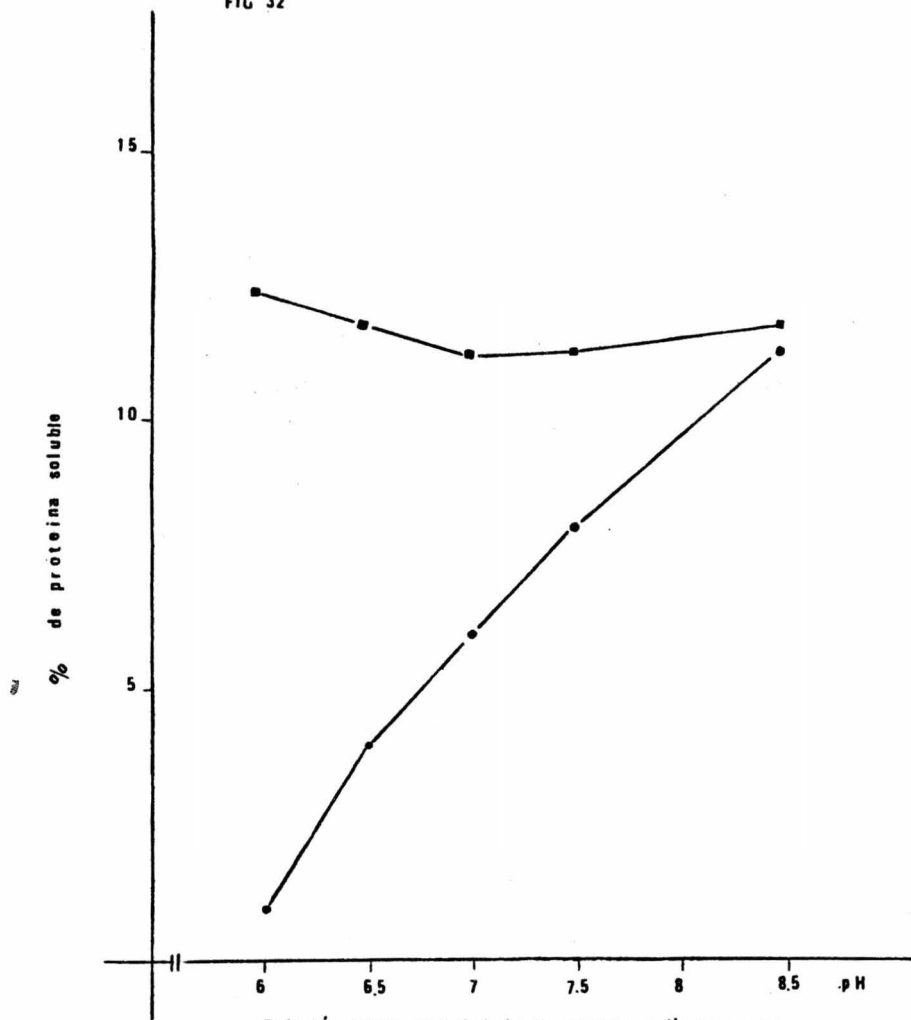
FIG 31



Relacion entre solubilidad de la muestra a diversos pHs
con muestras de

- — Pasta de nabo
- - - - harina de alfalfa
- ⋮ galleta

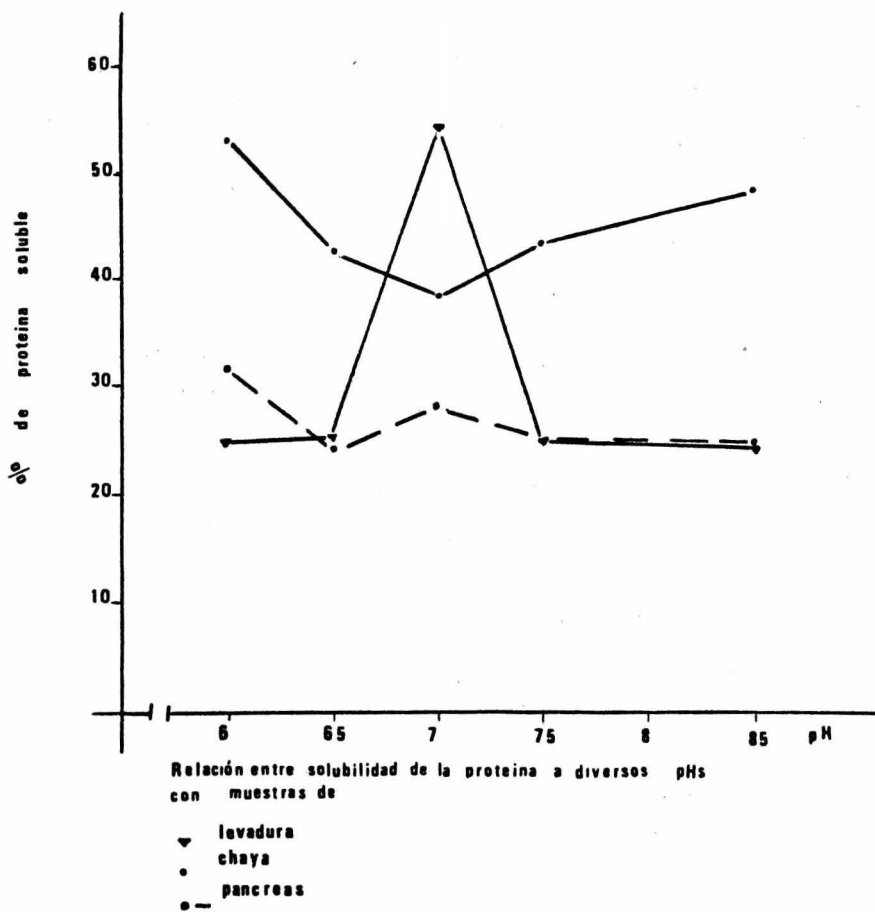
FIG 32



Relación entre solubidad de la proteína a diversos pHs

con muestras de
■ pasta de coco
● linaza

FIG 33



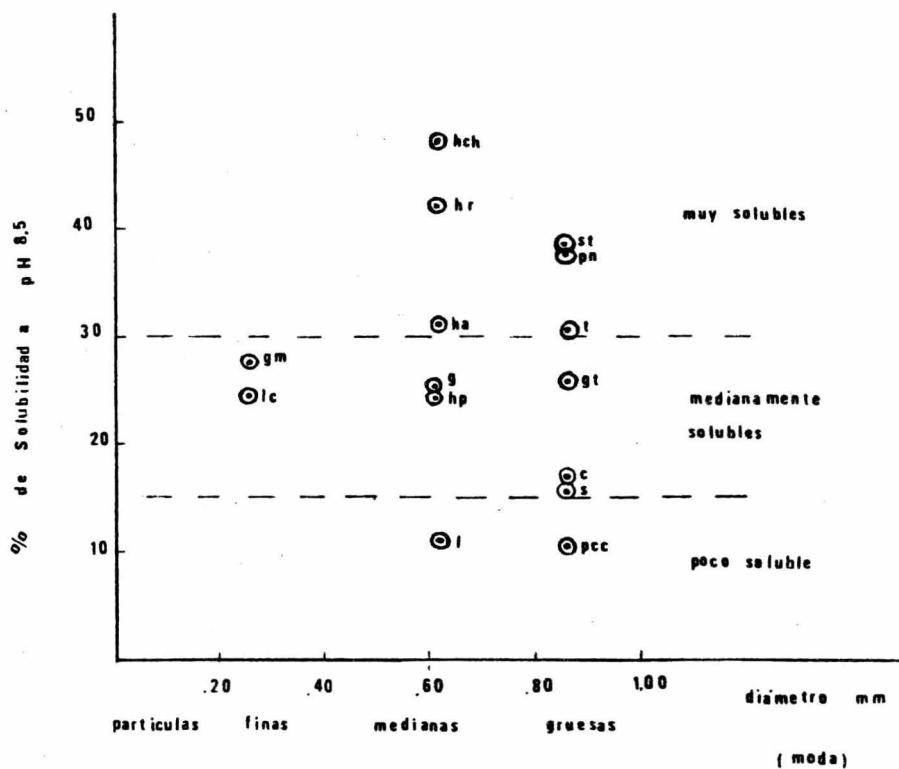


FIG. 34 Correlación entre solubilidad y tamaño de partícula a pH 8,5

FIG 35

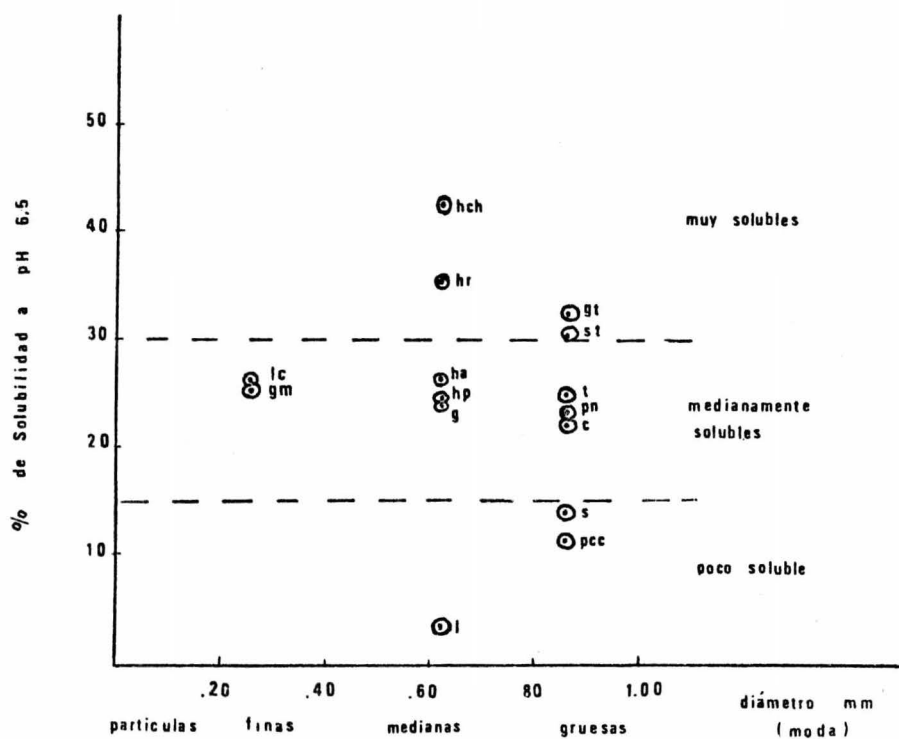


FIG. 35 Correlación entre solubilidad y tamaño de partícula a pH 6,5

Discusión

Como el objetivo primordial era establecer un conjunto de normas o criterios para la evaluación bromatológica de los suplementos proteicos de uso ganadero, debemos enfocar nuestra discusión en base a la búsqueda de una fórmula que pondere: concentración de proteína cruda (tabla 1), insolubilidad de la proteína en el rumen (pH 6.5 y la solubilidad de la proteína en el duodeno (pH 8.5). Esto se justifica en el capítulo 11, donde se indica que la proteína insoluble del rumen es protegida del ataque microbiano y por lo tanto, se desamina menos. En cambio, para ser fácilmente soluble a pH 8.5. Por el momento nos limitaremos a centrar nuestra discusión en la insolubilidad de la proteína en el rumen, que puede ponderarse con un coeficiente de castigo sobre las muestras muy solubles a pH 6.5. v.gr.: en la tabla 1 se observa que la chaya tiene una buena concentración de proteína (14%) y quizás hasta 33 % en otras muestras medidas en su solubilidad en este estudio) pero su proteína es excesivamente soluble (43 % indicado en las figuras 29 y 35) por lo tanto, se pensaría que esta planta sería mejor utilizada por los monogástricos y en especial por el humano, ya que se fermentaría fácilmente en el rumen. Por otra parte, la linasa y la pasta de coco son poco solubles (menor del 15 %) y tienen mediana o alta concentración proteica, por lo tanto se sugieren como buenos suplementos proteicos.

A un primer nivel de aproximación quizás bastaría con que se desarrollase la fórmula siguiente:

$$C_e = \frac{C \times 100}{P \left(1 - \frac{\alpha_s}{100} \right)}$$

donde C_e es igual al costo efectivo de la proteína insoluble, C - costo unitario de la muestra (pesos por kg); p , la concentración - proteica (% de proteína cruda); s , el porcentaje de la solubilidad a pH 6.5 del nitrógeno y α , el coeficiente de fermentabilidad (de cero a uno) de la proteína soluble, este último coeficiente requiere estudios más detallados que el presente, pero, en forma burda podemos suponer que entre el 10 % o 50 % de la proteína soluble - es desaminada y su nitrógeno se pierde en la orina o el estiércol (35), es decir: 0.1 menor a menor 0.5. Por ello podemos ver las - diferencias teóricas de este factor de corrección al dar valores de 0.0, 0.25 y 0.5 al coeficiente α y ver su importancia en el - rendimiento económico de las proteínas.

CONCLUSIONES.

1) Se logró adaptar una metodología sencilla para medir la solubilidad de la proteína cruda de diversos suplementos proteicos.

2) Se observó que el factor más determinante en estas mediciones fué la calidad de la muestra y no el tamaño de la partícula (figuras 34 y 35). Ello simplifica grandemente la preparación de las muestras.

3) Se desarrolló la fórmula:
$$C_e = \frac{C \times 100}{P \left(1 - \frac{\alpha s}{100} \right)}$$

que permite calcular el costo unitario efectivo C_e , de la proteína cruda, cuando se conoce el porciento de la proteína P , el porciento de su solubilidad s y la fracción desperdiciada en el rumen α .

4) Con diversos valores de α (0.00, 0.25 y 0.50) se logró estimar que la solubilidad puede llegar a aumentar hasta en un 27 % los valores de C_e (Tabla IV) y que la insolubilidad de la proteína en la pasta de coco y en el sorgo, seguramente elimina ese problema.

5) El cálculo del valor del C_e puede ser un método sencillo para estimar de antemano los rendimientos económicos de los suplementos proteicos y permite relacionar, en forma global, los efectos interactivos del costo del alimento, la concentración proteica y la solubilidad de la proteína cruda. Creemos que α debe evaluarse in vivo para poder confirmar su validez en los análisis

bromatológicos de los suplementos proteicos, tal y como lo están haciendo, Orkov en el Rowett Institute (Escocia) y el grupo de Ti ssier en el Institute de la Recherche Agronomique (Francia).

BIBLIOGRAFIA

1. Annison, E.F., y col. *Ruminal ammonia formation in relation to the protein requirement of sheep. III. Ruminal ammonia formation with various diets.* *J. Agr. Sci.* 44, 270 (1954).
2. Annison, E.F., y col. *Nitrogen metabolism in sheep.* *Bioch. J.* 64, 705-714 (1956).
3. Annison, E.F., y col. *El metabolismo en el rumen.*
UTEHA
México. (1956).
4. Anwar, A. y Clandinin, D.R. *Nitrogen solubility as a means of estimating the gross protein value of Rapeseed meal.* *Poultry Sci.* 50, 135-136 (1971).
5. Arias, C., y col. *The influence of different amounts and sources of energy upon in vitro urea utilization by rumen microorganisms.* *J. Anim. Sci.* 10, 683 (1951).
6. Belasco, I.J. *The comparison of urea and protein meals as nitrogen sources for rumen microorganisms.* *J. Anim. Sci.* 12, 907 (1953).
7. Belasco, I.J. *The role of carbohydrates in urea utilization. Cellulose digestion and fatty acid formation.* *J. Anim. Sci.* 15, 496 (1956).
8. Bentley, O.G. y col. *Supplements to poor quality hay for fattening cattle. (Abstract).* *J. Anim. Sci.* 11, 757 (1952).
9. Boggs, *An in vivo N¹⁵ tracer study of amino acid metabolism in the rumen of sheep on a purified diet.* Ph. D. Thesis. Cornell University, Ithaca, N.Y.

10. Bryant, M.P. y col. Apparent incorporation of ammonia and — amino acid carbon during growth of selected species of rumi-
nal bacteria. *J. Dairy Sci.* 46, 150-154 (1963).
11. Burroughs, W. y col. *In vitro* observations upon the nature—
of Protein influences upon urea utilization by rumen microor-
ganisms. *J. Anim. Sci.* 10, 672 (1951).
12. Caffrey, P.J. y col. Nitrogen metabolism in the ovine. II.
Utilization of blood urea and ammonia. *J. Anim. Sci.* 26, 601
(1967).
13. Calovos, N.F. y col. Urea for lactating dairy cattle. II. E
ffect of various levels of concent rate urea on nutritive —
value of the ration. *J. Dairy Sci.* 50, 523 (1967).
14. Chalmers, M.I. y col. Duodenal administration and heat proce-
ssing as factor influencing fate of casein supplements.
J. Agric. Sci. 44, 254-262 (1954).
15. Chalmers, M.I. Protein synthesis in the rumen in digestive—
physiology and nutrition of the ruminal in Lewis. D. Diges-
tive physiology and nutrition of the ruminant. Butterworth,
London, 205-226 (1961).
16. Chalmer, M.I. y col. The effect of heat treatment on the —
processing of groundnut meal on the valve of the protein —
for the ruminants wth some additional experiments on copra.
J. Agric. Sci. 63, 283-287 (1964).
17. Chalupa, W. Metabolic aspects of nonprotein nitrogen utili-
zation in ruminant animals. *Fed. Proceedings.* 31, 1152(1972).

18. Conn, E.E. y Estumpf, P.K. *Outlines of Biochemistry*. 2th Ed. John Wiley, and Sons, Inc. N.Y. (1967).
19. Conrad, H.R. and col. Nitrogen utilization by the ruminant. Appreciation of its nutritive value. *J. Dairy Sci.* 51, 276 (1968).
20. Charlet-Léry, G. y col. Recherces sur l'efficacité alimentaire des marcs de pommes fermiers. V. Etude chez le mouton et le porc de la digestibilité apparente des constituants de marcs de pommes gras, ensilés ou déshydratés. *Ann. zootech.* 4, 321-332 (1955).
21. Delort-Laval, J., Viroben, G. Taux de disponibilité de la lysine et de la tyrosine dans les protéines protégées par certaines substances tannantes (formaldéhyde, extrait tannant de châtaignier) contre la désaminación en milieu de rumen. *C.R. Acad. Sci. Paris*, 269 Ser. D. (1969).
22. Delort-Laval, J. and col. Protection des protefnes alimentaires contre la désamination bacterienne au niveau du rumen. *Ann. Biol. anim. Bioch. Biophys.* 12, 179-185 (1972).
23. Driedger, A. and Hatfield, E.E. Influence of tannins on the nutritive value of soybean mela for ruminants. *J. Anim. Sci.* 34, 466 (1972).
24. Dukes "Physiology of domestic animals. 8th Ed. Comstock Publishing associates. London (1970).
25. *Encyclopaedia Britanica*. Vol. I (1974).
26. Ewart, J. A.D. Action of glutaraldehyde, nitrous acid or chlorine on wheat proteins. *Jl. Sci. Fd. Agric.* 19, 370-375 (1968).

27. Chang, S. I. Effect of tannin content of grain sorghums on their feeding value for growing chicks. *Poultry Sci.* 43, 30-35 (1964).
28. Ferguson, K.A. The effect of protecting dietary protein — from microbial degradation in the rumen. *Aust. J. Sci.* 30, 215-217 (1967).
29. Fuller, H. L. and et. al. Detoxication of dietary tannic acid by chicks. *Jl. Nutr.* 91, 477-481 (1967).
30. Gilligan, W. Evidence for multiple components in microbial-cellulases. *Canad. Jl. Microb.* 1, 90-107 (1954).
31. Glimp, H.A. y col. Effect of reducing soybean protein solubility by dry heat on the protein utilization of young lambs.
32. Gill, J. y col. Characteristic of free rumen cellulases. *Jl. Agric. Food Chemist.* 5, 363-367 (1957).
33. Hart, E.B. y col. The utilization of simple nitrogenous compounds such as urea and ammonium bicarbonate by growing calves. *J. Dairy Sci.* 22, 785 (1939).
34. Henis, Y. y col. Effect of water extracts of carob pods, tannic acid and their derivatives on the morphology and growth of microorganisms. *Appl. Microb.* 12, 204-209 (1964).
35. Hungate, R.F. *The rumen and its microbes*, Academic Press, Ltd. London (1966).
36. Lehninger, A.L. *Biochemistry: The molecular basis of cell structure and function*. Worth publisher, inc. (1970).

37. Leroy, F. y col. *Protection des protéines alimentaires contre la désamination bactérienne au niveau du rumen.* C.R. Acad. Sci. (Paris). 259, 1592 (1964).
38. Leroy, F. y col. *Tannage des protéines de tourteaux d'arachide et de soya et phénomènes de désamination dans le rumen de moutons adultes.* 9th Int. Congr. Anim. Prod. Edinburgh (August) *Scientific Programme and Summaries*, p. 137(1966).
39. Lewis, D. *Blood-urea concentration in relation to protein utilization in the ruminant.* J. Agr. Sci. 48, 436-446 (1957).
40. Little, C.O. y col. *Nutritional significance of soluble nitrogen in dietary proteins for ruminants.* J. Anim. Sci. 22, 358 (1953).
41. Loosli, J. K. y col. *Utilization of urea by calves less than four months of age.* J. Dairy Sci. 25, 680 (1942).
42. Mc Donald, I. W. *The role of ammonia in ruminal digestion of protein.* Biochem. J. 51, 86 (1952).
43. Mc Gilvery, R.W. *Bioquímica Interamericana.* (1972).
44. Mc Laren, G.A. y col. *Diethylbestrol and length of preliminary period in the utilization of crude Biuret and urea by Lambs. I. Digestion and Nitrogen retention.* J. Anim. Sci. 18 1319 (1959).
45. Muldave, K. *Nucleic acids and protein biosynthesis.* Ann. Rev. Biochem. 34, 419 (1965).

46. Oslage, H.J. y col. *versuche über den nährwert von Johannisbrot beim wiederkauer insbesondere über die Beeinchtigung der Eiweißverdaulichkeit durch Gerbsaure des Futtermittels*, Arch. Tierernähr, 8, 221-277 (1958).
47. Otagary, K.K. y col. *Utilization of nonprotein nitrogen in rations of milking cows under Hawaiian conditions*. J. Dairy Sci. 39, 1753 (1956).
48. Pearson, R.M. y col. *The utilization of urea in the bovine rumen. 3. The synthesis and breakdown of protein in rumen ingesta*. Biochem. J., 37, 153 (1943).
49. Reaves, J.L. y col. *Effect of different nonprotein nitrogen sources on acceptability of rations by dairy cattle*. J. Dairy Sci. 49, 1142 (1966).
50. Rupel, I.W. y col. *The comparative value of urea and Linseed meal for milk production*. J. Dairy Sci. 26, 647 (1943).
51. Rust, J.W. y col. *The utilization of dicyandiamide and urea by Lactating Dairy Cows*. J. Anim. Sci. 15, 1133 (1956).
52. Scientific American. *The Molecular Basis of Life*, by Robert H. Haynes and Philip C. Hanawalt. W.H. Rreeman and company. San Francisco. (1958).
53. Scientific American. *La Célula viva*. 2a. Ed. Versión española dirigida por Julio K. Villanueva. Editoria; Blume. (1970).
54. Shaadt, A. Jr. y col. *Adaptation to and palatability of Urea, Biuret and Diamonium Phosphate as NPN sources for ruminants*. J. Anim. Sci. 25, 73 (1966).

55. Troelsen, J.F. "Outline of procedure for in vitro digestion of fo
rage samples. (1971). (Comunicación personal).
56. Ulrich, R. *La vie des fruits*. Masson, Paris, 128-132 (1952).
57. Virtanen, A.E. Milk production of cows on protein-feed. *Science*.
153, 1603 (1966).
58. Visek, W.J. Some aspects of Ammonia toxicity in animal cells. *J.*
Dairy Sci. 51, 286 (1968).
59. Ward, G.M. y col. Urea as a protein extender for Dairy Cattle. *J.*
Dairy Sci. 38, 298 (1955).
60. Weller, R.A. The amino acid composition of hydrolysates of micro
bial preparation from the rumen of sheep Australian. *J. Biol. Sci.*
10, 384 (1957).
61. Yoshida, J. 1963. Studies on the toxicity of urea and its control
8. Influence of pH on ammonia absorption from the rumen. *Japan J.*
Zotech. Sch. 34, 328 (1963).
62. Zelter, S. y col. Protection des protéines alimentaires contre -
la désamination bactérienne au niveau du rumen. I. Etudes in vi-
tro. *Ann. Biol. anim. Bioch. Biophys.* 10, 111-122 (1970).