



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

PROGRAMA DE MAESTRIA EN CIENCIAS DE LA PRODUCCIÓN Y DE LA SALUD
ANIMAL

**Licor de maíz, carbohidrasas y tiempo de fermentación para incrementar el valor
energético de la harina de germen de maíz en dietas para pollos.**

T E S I S

QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:

MAESTRO EN CIENCIAS

PRESENTA

NAYELI JAZMIN RODRÍGUEZ LÓPEZ

TUTOR:

ERNESTO ÁVILA GONZÁLEZ (FMVZ-UNAM)

COMITÉ TUTOR:

CARLOS LÓPEZ COELLO (FMVZ-UNAM)

JOSÉ ARCE MENOCA (FMVZ-UMSNH)



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



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.

DEDICATORIAS

A mis padres Martin y María por su amor, comprensión y apoyo incondicional. Gracias a ustedes he alcanzado tantos logros en esta vida. Me han enseñado lo que significa el empeño y la dedicación. Siempre han sido y serán mi gran ejemplo a seguir. Los amo inmensamente.

A mi hermano Leonardo por apoyarme, protegerme y cuidarme siempre. Eres el mejor ejemplo de hermano mayor que se pueda tener, una gran motivación para siempre dar mi máximo esfuerzo. Gracias por ser más que mi hermano, mi gran amigo en esta vida.

A mi novio Ernesto que ha estado conmigo durante todo este viaje. Gracias mi amor por ser la persona con la que sumo, por siempre animarme a seguir adelante y por hacerme inmensamente feliz. Siempre has estado en este corazón a pesar del tiempo y la distancia que hemos tenido que pasar lejos uno del otro.

A la señora Alicia y el señor Jesús por abrirme las puertas de su hogar y hacerme sentir como en casa en esta gran ciudad.

A Karen Hugenberg y Jim Dunn por su hermosa amistad, por su ayuda y comprensión durante mi estancia en Quincy, los llevare siempre dentro de mi corazón.

A Víctor Pérez y su familia por haberme hecho sentir como en México durante mi estancia en ADM y por su acogedora hospitalidad.

Y sobre todo a mi Dios, que siempre me ha acompañado y cuidado. El que me ha dado la mano cuando he caído para levantarme y seguir adelante. Gracias Dios mío por todas tus bendiciones.

AGRADECIMIENTOS

A la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la UNAM, por haberme permitido continuar mi formación profesional, por los excelentes profesores de los que tuve oportunidad de aprender, por haberme permitido seguir mi vocación científica.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología por la beca destinada al apoyo del programa de posgrado.

Al Dr. Ernesto Ávila por cada una de las oportunidades que me brindo, por su acompañamiento y continuo asesoramiento. Además por su amable atención y seguimiento durante mi intercambio.

Al Dr. Carlos López Coello por su acompañamiento, continuo asesoramiento y por cada una de las oportunidades que me brindo. Le agradezco por cada uno de los consejos y experiencias compartidas.

Al Dr. José Arce por su colaboración, cooperación y por las oportunidades que me ha dado.

A la compañía ADM Animal Nutrition por permitirme realizar una estancia de investigación, en especial a Víctor Pérez.

Al personal del Centro de Investigación ADM Animal Nutrition en Mendon, Illinois en los Estados Unidos de América por su apoyo en la realización de la prueba biológica.

Al personal del Laboratorio de Investigación de ADM Animal Nutrition en Quincy, Illinois, por su colaboración en el procesamiento de las muestras, Karen Hugenberg por su cooperación y enseñanza del proceso.

Al Dr. Ezequiel Rosales por su asesoramiento, apoyo y orientación, le agradezco por brindarme su trato siempre cordial.

RESUMEN

La fermentación húmeda del maíz genera co-productos como la harina de germen de maíz (HGM) y el licor de maíz (LM), que pueden ser usados en la nutrición animal. La inclusión de estos co-productos en las dietas avícolas, se ha visto limitada por el alto contenido de polisacáridos no amiláceos (PNA). El objetivo de este estudio fue evaluar *in vitro* e *in vivo* el LM sin y con fermentación (24 hrs) incluyendo o no carbohidrasas (CH) para PNA, para incrementar el valor alimenticio de HGM en dietas para pollos de engorda. Se realizaron 5 estudios *in vitro*, con la metodología IVF64V2 desarrollada por ADM en LM + enzimas para PNA y LM con fermentación por 24 horas. Para el estudio *in vivo* fueron utilizados 240 pollos machos Ross 708, de 6 a 50 días de edad alimentados con dietas base maíz + pasta de soya para las fases de iniciación, crecimiento y finalización con 5, 10 y 20% de HGM. Las dietas incluyeron diferentes presentaciones de LM (0% LM, LM natural y LM fermentado) en porcentajes iguales a los de HGM con y sin enzimas carbohidrasa (103,000 U/g de xilanasas, 128,000 U/g de celulasas y 33,000 U/g de beta-glucanasas) a una dosis de 25 ppm. Se empleó un arreglo al azar factorial 2 x 3; un factor con y sin enzimas y el otro las dietas con LM (0% LM, LM natural y LM fermentado), cada tratamiento con 10 réplicas de 4 aves cada una. Las pruebas *in vitro*, indicaron ($P < 0.05$), que el LM con enzimas y fermentación por 24 horas incrementaron la digestibilidad de la materia seca de HGM. Para el experimento *in vivo* no se encontraron diferencias ($P > 0.05$) entre factores en conversión alimenticia. Sin embargo, en la ganancia de peso (GP) de los 6 a los 50 días de edad el LM la mejoró en un 5% ($P < 0.05$), debido a un incremento en el consumo de alimento. No se encontraron 100% de coincidencias de las pruebas *in vitro* con la prueba *in vivo*. Sin embargo, la combinación uno a uno HGM + LM natural incrementó el valor alimenticio, lo que indica el potencial de estos co-productos para ser utilizados como ingredientes alternativos en dietas para pollo de engorda. Pudiendo incluir hasta en un 20%, de cada ingrediente, sin afectar el rendimiento productivo.

Palabras Clave: Pollo de engorda, Licor de maíz, Harina de germen de maíz, Fermentación

ABSTRACT

Wet corn fermentation generated co-products as corn germ meal (HGM) and corn steep liquor (LM) that can be used in animal feed. The inclusion of corn co-products in poultry diets has been limited by the high concentration of non-starch polysaccharides (NSP). The aim of this study was evaluated LM with and without fermentation (24 hrs) and NSP carbohydrases (CH) using *in vitro* and *in vivo* experiments to increase the nutritional value of HGM in broilers diets. Five *in vitro* experiments were made using the IVF64V2 methodology developed by ADM in LM + NSP enzymes and LM fermented by 24 hours. In the *in vivo* study were used 240 male Ross 708 broilers from 6 to 50 days old. Broilers were fed with corn + soybean diets for initiation, growth and ending with 5, 10 and 20% HGM. Diets contained 0% LM, natural LM and fermented LM in equal percentages to HGM with and without carbohydrase enzymes (103,000 U/g of xylanase, 128,000 U/g of cellulases and 33,000 U/g beta-glucanase) using a dose of 25 ppm. A random arrangement design was used distributed in 2 x 3 factorial; one factor was with and without enzymes and other factor were LM diets, with 10 reps per treatment with 4 chickens each. The *in vitro* experiment was identified an effect ($P < 0.05$) in LM with enzyme and LM fermented by 24 hours both increased the organic matter digestibility of HGM. For the *in vivo* experiment no effects were detected ($P > 0.05$) between factors in feed conversion. However, at 6 to 50 days old the LM improved by 5% ($P < 0.05$) weight gain, due the increased in feed intake. There were not found 100% coincidences neither *in vitro* experiment nor *in vivo* experiment. However, blend one-to-one HGM + LM natural increased the nutritional value, indicating the potential of these co-products to be used as alternative ingredients in broilers diets. HGM and LM can be included in broilers diets up to 20% of each ingredient in a combination one-to-one.

Keywords: Broilers, Corn steep liquor, Corn germ meal, Fermentation

ÍNDICE	PAGINA
DEDICATORIAS	II
AGRADECIMIENTOS	III
RESUMEN	IV
ABSTRACT	V
LISTA DE ABREVIATURAS	X
1. INTRODUCCIÓN	2
1.1 Fuentes de energía para la alimentación de las aves	2
1.2 El maíz	2
1.3 Co-productos de la molienda húmeda del maíz	3
1.4 El almidón	5
1.4.1 Factores que afectan la digestibilidad del almidón	5
1.4.2 Paredes celulares y su estructura general	6
1.4.3 Fibra y polisacáridos no amiláceos	6
1.4.4 Celulosa	7
1.4.5 Arabinosilanos	7
1.4.6 β -glucanos	8
1.5 Enzimas	8
2. JUSTIFICACIÓN	10
3. HIPOTESIS	11
4. OBJETIVOS	12
4.1 Objetivo general	12
4.2 Objetivos específicos	12
5. MATERIAL Y MÉTODOS	13
5.1 Experimentos <i>in vitro</i>	13
5.1.1 Preparación de las muestras	13
5.1.2 Procedimiento	13
5.1.3 Análisis de laboratorio	16
5.1.4 Experimento 1: Efecto de las enzimas CH para PNA sobre el porcentaje de digestibilidad <i>in vitro</i> de la MS, FDN y EB de la HGM	17
5.1.5 Experimento 2: Digestibilidad <i>in vitro</i> de la MS del LM	17
5.1.6 Experimento 3: Efecto de la inclusión del LM natural con y sin enzimas CH para PNA sobre la digestibilidad <i>in vitro</i> de la MS de la HGM	17
5.1.7 Experimento 4: Efecto del LM fermentado a 12 y 24 horas con enzimas CH para PNA sobre la digestibilidad <i>in vitro</i> de la MS de la HGM	18

5.1.8 Experimento 5: Efecto de la utilización de LM natural y LM fermentado a 24 horas con y sin enzimas CH para PNA sobre la digestibilidad <i>in vitro</i> de la MS y FDN de la HGM	18
5. 2 Experimento <i>in vivo</i> con pollos de engorda	19
5.2.1 Fases de alimentación	19
5.2.2 Dietas experimentales	19
5.2.3 Análisis de laboratorio	20
5.2.4 Registro de consumo de alimento	20
5.2.5 Acceso al consumo de agua	20
5.2.6 Identificación de las aves	20
5.2.7 Control de temperatura, programa de iluminación y manejo de las aves	20
5.2.8 Eliminación de animales	21
5.2.9 Análisis estadístico	21
6. RESULTADOS	22
6.1 Experimentos <i>in vitro</i>	22
6.1.1 Perfil nutricional de los ingredientes	22
6.1.2 Experimento 1: Efecto de las enzimas CH para PNA sobre el porcentaje de digestibilidad <i>in vitro</i> de la MS, FDN y EB de la HGM	22
6.1.3 Experimento 2: Promedio de digestibilidad <i>in vitro</i> de MS del LM	23
6.1.4 Experimento 3: Efecto de la inclusión del LM al 0, 10 y 20%, con y sin enzimas CH para PNA sobre la digestibilidad de la MS, FDN y EB de la HGM	23
6.1.5 Experimento 4: Efecto del LM fermentado 12 y 24 horas con enzimas CH para PNA sobre la digestibilidad <i>in vitro</i> de la MS y FDN de la HGM	23
6.1.6 Experimento 5: Efecto de la utilización de LM natural y LM fermentado a 24 horas con y sin enzimas CH para PNA sobre la digestibilidad <i>in vitro</i> de la MS y FDN de la HGM	23
6.2 Experimento <i>in vivo</i> con pollos de engorda	24
6.2.1 Parámetros productivos	24
6.2.1.1 Consumo de alimento	24
6.2.1.2 Ganancia de peso	24
6.2.1.3 Conversión alimenticia	25
7. DISCUSIÓN	26
7.1 Experimentos <i>in vitro</i>	26
7.2 Experimento <i>in vivo</i> con pollos de engorda	28

8. CONCLUSIONES	30
8.1. Experimentos <i>in vitro</i>	30
8.2. Experimento <i>in vivo</i> con pollos de engorda	30
9. CUADROS	31
10. REFERENCIAS	43

INDICE DE CUADROS	PAGINA
Cuadro 1. Diseño experimental empleado en el experimento <i>in vivo</i>	31
Cuadro 2. Fases de alimentación utilizadas en el experimento	31
Cuadro 3. Composición de las dietas experimentales en la fase 1 (6-13 días)	32
Cuadro 4. Composición de las dietas experimentales en la fase 2 (14-28 días)	33
Cuadro 5. Composición de las dietas experimentales en la fase 3 (29-50 días)	34
Cuadro 6. Temperaturas mínimas y máximas en la caseta durante la crianza	35
Cuadro 7. Calendario de luz utilizado en el experimento <i>in vivo</i> con pollos	35
Trabajo experimental <i>in vitro</i>	
Cuadro 8. Perfil nutricional del maíz, harina de germen de maíz, licor de maíz y 50% HGM + 50% LM	36
Cuadro 9. Efecto de las enzimas CH para PNA sobre el porcentaje de digestibilidad <i>in vitro</i> de la MS, FDN y EB de la HGM (Exp. 1)	36
Cuadro 10. Promedio de digestibilidad <i>in vitro</i> de MS del LM (Exp. 2)	37
Cuadro 11. Efecto de la inclusión del LM al 0, 10 y 20%, con y sin enzimas CH para PNA sobre la digestibilidad de la MS, FDN y EB de la HGM (Exp. 3)	37
Cuadro 12. Efecto del LM fermentado 12 y 24 horas con enzimas CH para PNA sobre la digestibilidad <i>in vitro</i> de la MS y FDN de la HGM (Exp. 4)	38
Cuadro 13. Efecto de la utilización de LM natural y LM fermentado a 24 horas con y sin enzimas CH para PNA sobre la digestibilidad <i>in vitro</i> de la MS y FDN de la HGM (Exp. 5)	39
Cuadro 14. Resultados de los efectos principales en el consumo de alimento en gramos en pollos de engorda durante la fase 1, 2 y 3 de alimentación.	40
Cuadro 15. Resultados de los efectos principales en la ganancia de peso en gramos en pollos de engorda durante la fase 1, 2 y 3 de alimentación.	41
Cuadro 16. Resultados de los efectos principales en la conversión alimenticia en gramos por gramos en pollos de engorda durante la fase 1, 2 y 3 de alimentación.	42

LISTA DE ABREVIATURAS

A	Arabinofuranosa
AX	Arabinoxilanos
CH	Carbohidrasas
EB	Energía bruta
EDTA	Ácido etilendiaminotetraacético
EE	Extracto etéreo
FDA	Fibra detergente ácida
FDN	Fibra detergente neutra
HCl	Ácido clorhídrico
HGM	Harina de germen de maíz
LM	Licor de maíz
m	Muestra
MS	Materia seca
na	Muestra nativa
NaOH	Hidróxido de sodio
PC	Proteína cruda

PM	Peso de la muestra
PMSF	Fluoruro de fenilmetilsulfonilo
PNA	Polisacáridos no amiláceos
X	Xilopiranososa

1. INTRODUCCIÓN

1.1 Fuentes de energía para la alimentación de las aves

Los alimentos que las aves consumen están formados principalmente por granos de cereales complementados con fuentes proteínicas de origen animal, marino y/o vegetal, fuentes concentradas de energía, así como vitaminas, minerales y algunos aditivos (Cuca *et al*, 2009). Los granos de cereales, las grasas y aceites son los ingredientes de suministro de energía primaria (NRC, 1994).

Las dietas de pollos de engorda están compuestas tradicionalmente de maíz o sorgo como principales fuentes de energía y pasta de soya como fuente de proteína (Knudsen, 2014). Sin embargo en los últimos años el maíz se ha desviado para la producción de etanol, alcanzado precios sin precedentes (Donohue y Cunningham, 2009).

Una estrategia para sustituir parte de la energía de la dieta es removiendo una porción del aceite y/o grasa y mediante el empleo de carbohidrasas para aumentar la digestibilidad de los polisacáridos no amiláceos (PNA) (O'Neill *et al*, 2012). El objetivo de emplear carbohidrasas, es aumentar la disponibilidad de nutrientes ligados a estos polisacáridos (Jones *et al*, 2015).

1.2 El maíz

El maíz es el cereal más comúnmente utilizado en las dietas avícolas en todo el mundo (Singh *et al*, 2014). Además, es considerado como una de las principales fuentes de energía metabolizable en dietas para aves (Cuca *et al*, 2009).

A diferencia del resto de los cereales es una especie monoica, de la cual existen seis tipos: dentado, duro, dulce, blando o harinado, envainado y reventón (Ángeles y Cortéz, 2009). En los Estados Unidos se producen grandes cantidades de maíz, siendo preferidas para la alimentación animal las variedades amarillas, ricas en luteína. Aunque es una fuente de energía metabolizable excelente, su contenido de proteína es bajo. Su contenido de grasa varía entre 4 y 6% en base seca, siendo rico en ácido linoleico (McDonald *et al*, 2013).

El grano está compuesto de cuatro partes principales; germen, endospermo, pericarpio y punta, cada una de sus partes será descrita a continuación. El germen está compuesto por el embrión y el escutelo, que representan del 10-12% del peso seco del grano. El endospermo representa la mayor porción del grano, constituye como materia seca del 82 al 84% de su peso, y está compuesto principalmente por almidón (86-89%). El pericarpio es la estructura más externa de la semilla, representa del 5-6% del peso seco del grano y este se extiende desde la base del grano hasta la punta. Finalmente la punta del grano es el lugar de unión de este con la mazorca, donde se realiza el movimiento de nutrientes para el desarrollo del grano (Hernandez, 2006).

La energía del maíz proviene del almidón y del germen que contiene la mayor parte del aceite (Cuca *et al*, 2009), el maíz contiene 3,350 Kcal/kg de energía metabolizable (NRC, 1994), que es superior a otros cereales como el sorgo y el trigo (Cuca *et al*, 2009).

1.3 Co-productos de la molienda húmeda del maíz

La molienda húmeda del maíz, ha sido desarrollada para optimizar el uso y maximizar el valor de cada uno de los componentes del grano de maíz. El contenido de estos componentes es segregado durante la producción de aceite y de fécula de maíz, los cuales son combinados y procesados para obtener productos específicos que satisfagan las necesidades nutricionales en la industria animal (Davis, 2001). Por otro lado, la industria del etanol ha crecido rápidamente a nivel mundial (Tolman y Tumbleson, 2006), 100.8 millones de toneladas de maíz han sido usadas para la producción de etanol en el 2006, representando cerca del 17% del cultivo de maíz de los Estados Unidos. La molienda húmeda del maíz es responsable del 18% de la producción de etanol (Godoy *et al*, 2008).

La producción de co-productos originados a partir de la molienda húmeda del maíz comienza con la entrega del maíz en las instalaciones, el cual será muestreado para analizar su calidad y aprobar su uso. A continuación el grano será transportado por elevadores, que contiene un sistema de limpiado, hacia los tanques donde el grano será humedecido con una solución de dióxido de azufre entre 30 a 50 horas y entre

49 a 54° C. Durante este proceso, los nutrientes solubles se diluirán en el agua, que más tarde será evaporada con objeto de concentrarlos, dando origen al licor de maíz (LM). Continuando con el proceso de la molienda húmeda del maíz, el germen será separado del agua pesada con el propósito de separar el aceite de maíz de la harina de germen de maíz (HGM) (Davis, 2001). Finalmente, durante el procesamiento del almidón y del gluten, se generan otros co-productos como la harina de gluten de maíz, gluten de maíz y fibra de maíz (Godoy *et al*, 2008).

La HGM puede ser utilizada como ingrediente alternativo para las dietas avícolas (Albuquerque *et al*, 2014). Está contiene parte del endospermo, pericarpio y germen, posee 20% de proteína, 2% de grasa y 9.5% de fibra (Davis, 2001). Asimismo, el uso de alimentos ricos en ácidos grasos tiene el efecto benéfico de reducir la tasa de paso de alimento a través de tracto gastrointestinal, lo que aumenta la digestibilidad de los ingredientes (Albuquerque *et al*, 2014). Además, es rica en tocoferol (vitamina E), presente en el germen (Milošević *et al*, 2011); por lo que se puede incluir hasta un 20% de HGM en dietas para pollo de engorda sin ningún daño en el rendimiento productivo (Albuquerque *et al*, 2014).

El LM es un ingrediente líquido, que puede ser considerado como una fuente de proteína líquida debido que posee entre un 25 a un 50% de proteína en base seca. Comúnmente puede ser utilizado en combinación con harina de gluten de maíz u otros ingredientes (Davis, 2001).

Una gran variedad de co-productos pueden ser utilizados en dietas para aves y cerdos (Rojas *et al*, 2013). Su inclusión puede ayudar a reducir el costo de alimentación (Rochell *et al*, 2011). No obstante, a pesar de la abundante disponibilidad de estos co-productos en la agroindustria por sus precios bajos, su inclusión en las dietas avícolas se ha visto limitada debido a la presencia de polisacáridos no amiláceos (PNA), debido que aumentan la viscosidad intestinal, afectan el crecimiento y el rendimiento productivo de las aves (Malathi y Devegowda, 2001). Se ha realizado un enorme esfuerzo para mejorar el valor nutritivo de las dietas avícolas, utilizando enzimas fibrolíticas (Kaczmarek *et al*, 2014).

1.4 El almidón

Cuantitativamente el nutriente más importante en las dietas de aves de corral. Que suelen contener hasta el 50% de almidón en base seca, siendo la fuente más importante de energía. Las principales son los granos de cereales provenientes de la familia de las gramíneas (trigo, arroz, maíz, cebada, centeno, mijo, sorgo, etc.), las cuales almacenan el almidón para ser utilizado como fuente de energía durante la germinación (Svihus, 2014).

Tiene una estructura altamente organizada que limita su total digestibilidad por los monogástricos, esto representa un reto a resolver (Björck *et al*, 2000). Es un hecho, que la digestibilidad comienza en la superficie de sus poros y en el interior de los canales, esto permite que la amilasa penetre y digiera los gránulos gradualmente (Zhang *et al*, 2006). La organización del almidón presente en las dietas de los monogástricos es en su forma nativa, dificultando su digestibilidad (Svihus, 2014). Sin embargo, en los pollitos se tiene una alta digestibilidad; se han demostrado una gran actividad de las enzimas disacaridasas y α -amilasas en pollitos de 2 días de edad (Sklan y Noy, 2000). Sin embargo, la digestibilidad cae entre los días 5 a 7 de edad, pero se restaura a sus niveles más altos a los 14 días de edad (Thomas *et al*, 2008). Por lo tanto se puede concluir, que las aves de corral cuentan con una alta capacidad para digerir el almidón (Svihus, 2011).

El almidón, en su forma nativa, está organizado en capas amorfas y cristalinas que se alternan para formar gránulos rígidos semi-cristalinos, de un tamaño de 1 a 50 μm , localizados dentro del endospermo (Svihus *et al*, 2005), está conformado por dos polisacáridos, la amilopectina que son cadenas de glucosa α -1–4 altamente ramificada debido que cuenta con enlaces α -1-6 y la amilosa, que se caracteriza por tener muy pocos de estos enlaces (Svihus, 2014).

1.4.1 Factores que afectan la digestibilidad del almidón

La relación entre la amilosa y la amilopectina, tamaño del granulo, propiedades de las proteínas, lípidos y fosfatos en la superficie del granulo han sido identificadas como posibles causas que reducen la digestibilidad del almidón (Svihus *et al*, 2005). También la presencia de fibra puede afectar su digestibilidad (Svihus, 2011). Un

beneficio potencial de la utilización de las enzimas CH para PNA, es que estas degradan las paredes celulares y así aumenta el acceso energético del almidón y de los otros nutrientes en el endospermo (Murphy *et al*, 2009).

1.4.2 Paredes celulares y su estructura general

Los granos de cereales están formados por una estructura compleja, compuesta de tejidos como las paredes celulares que tienen diferentes propiedades y composición (Saulnier *et al*, 2007). La pared celular que se encuentra en el exterior juega un papel fundamental de protección, este tejido es grueso, hidrofóbico y está compuesto de celulosa, xilanos y una gran cantidad de lignina. En el endospermo hay una capa de aleurona, delgada e hidrofílica, compuesta por dos polímeros: arabinoxilanos (AX) y β -glucanos, considerados compuestos insolubles. Estos polisacáridos varían significativamente, dependiendo de la especie, por ejemplo, el maíz es un cereal rico en AX (Jaworki *et al*, 2015).

1.4.3 Fibra y polisacáridos no amiláceos

La fibra dietaria cuenta con dos definiciones; la fisiológica se define como los componentes dietarios que se resisten a la degradación por las enzimas de los vertebrados y la definición química, es la suma de polisacáridos no amiláceos más lignina (Angel y Sorbara, 2014).

Una característica común de los granos de cereales, co-productos y fuentes de proteínas es que por lo general son compuestos ricos en polisacáridos no amiláceos y fibra, particularmente en su forma soluble (Theander *et al*, 1989). Se ha encontrado, que la fibra soluble tiene un efecto perjudicial en la utilización de los nutrientes en los pollos (McNab y Smithard, 1992), esto es debido a su presencia física, en el tracto gastrointestinal donde la barrera física de las paredes celulares puede encapsular los nutrientes potenciales disponibles. Como consecuencia, los componentes que tiene la fibra, ocasionan el mayor impacto negativo de la digestibilidad de los nutrientes y da lugar a un menor contenido de energía metabolizable aparente (Steenfeldt, 2001).

Los polisacáridos no amiláceos consisten en una serie de polisacáridos solubles e insolubles presentes en la pared celular (Vincken *et al*, 2003). Estos están

constituidos principalmente por pentosas, arabinosa y xilosa; las hexosas, glucosa, galactosa y manosa; la 6-deoxihexosa, ramnosa y fucosa; y los ácidos urónicos glucurónico y galacturónico. También los polisacáridos de las paredes celulares están constituidos por solo 10 monosacáridos comunes, cada monosacárido puede existir en dos anillos y estos pueden estar ligados mediante enlaces glucosídicos (Knudsen, 2014).

El polisacárido más importante en las paredes celulares es la celulosa, que forma una red de microfibras de celulosa (Knudsen, 2014). Sin embargo, en los granos de cereales los principales polisacáridos son los arabinoxilanos (AX) y β -glucanos.

1.4.4 Celulosa

La celulosa, monopolímero de residuos de D-glucopiranosil unidos por enlaces 1 \rightarrow 4 glucosídicos, está presente en todas las plantas; localizada en el endospermo, cotiledón y germen (Knudsen, 2014). Existen seis polimorfismos de la celulosa (I, II, III₁, III₁₁, IV₁ y IV₁₁), no obstante la celulosa I es la que se encuentra en la naturaleza. La celulosa II se obtiene a partir de celulosa I mediante la regeneración o mercerización; la celulosa III₁ y III₁₁ se forman a partir de celulosa I y II, respectivamente, por tratamiento con amoníaco líquido; Celulosa IV₁ y IV₁₁ se consigue calentando celulosa III₁ y III₁₁, respectivamente, a 206 °C en glicerol (O'Sullivan, 1997).

Las moléculas de celulosa son extremadamente largas (~15,000 unidades de glucopiranososa en una unidad de celulosa) (Nelson y Cox, 2008.), éstas microfibrillas se encuentran organizadas en forma intercalada en regiones cristalinas y regiones amorfas no cristalinas (Knudsen, 2014).

1.4.5 Arabinoxilanos

Es el mayor polímero en las paredes celulares, de la mayoría de los cereales (Izydorczyk y Biliaderis, 1995). Están formados por residuos lineales de (1 \rightarrow 4)- β -D-xilopiranososa (X) sustituidos principalmente en diversos grados de posición (O-2, la O-3 o ambas) por el residuo de α -L-arabinofuranosa (A) y como resultado se obtienen 4 elementos estructurales en la estructura molecular de AX: X

monosustituido en O-2 u O-3, X disustituido en 2,3-O y X no sustituido (Knudsen, 2014).

Para caracterizar la estructura de AX, se utiliza a menudo la proporción de arabinosa a xilano, esta relación es relativa y la secuencia de la distribución de estos elementos estructurales en la AX en los diferentes cereales varía dependiendo de la fuente, por ejemplo, en el grano de cebada es de 0.48 y en el del maíz es de 0.54 (Izydorczyk y Biliaderis, 1995).

1.4.6 β -glucanos

Los β -glucanos, están conformados por una secuencia lineal de residuos de homopolimeros de D-glucopiranosilo vinculados en su mayoría a través de enlaces consecutivos β -(1 \rightarrow 4) que están separados por enlaces simples β -(1 \rightarrow 3) (Izydorczyk y Dexter, 2008).

1.5 Enzimas

El aumento del costo de alimentación ha sido atribuido en cierta medida, a que parte del maíz utilizado para la alimentación animal ha sido destinado para la producción de etanol, incrementando la demanda (O'Neill *et al*, 2012). Subsecuentemente para mejorar el valor nutritivo de las dietas, se han utilizado enzimas exógenas para PNA, estrategia comúnmente aceptada en las dietas de pollos de engorda (Choct, 2006).

Las enzimas, son proteínas con una estructura tridimensional compleja que acelera procesos químicos, las cuales ejercen su efecto catabólico bajo un ambiente específico como es el pH, temperatura, humedad y contar con el sustrato específico (Angel y Sorbara, 2014).

La inclusión de co-productos en las dietas avícolas es una estrategia utilizada en la actualidad para reducir los costos de alimentación, una limitante es la presencia de PNA que aumentan la viscosidad intestinal, afectando el crecimiento y el rendimiento productivo de las aves (Malathi y Devegowda, 2001). Con el objetivo de mejorar el valor nutritivo de las dietas avícolas (Kaczmarek *et al*, 2014), se han utilizado enzimas exógenas que actúan sobre las cadenas de los polímeros causando su ruptura en partículas más pequeñas (Smits y Annison, 1996;

Kaczmarek *et al*, 2014). El modelo de acción de las enzimas para polisacáridos no amiláceos, se basa en romper la estructura de la barrera física de las paredes de la célula del endospermo. Cuando ocurre un decremento del valor de energía de los ingredientes que integra las dietas de pollo, la utilización de enzimas que degradan los PNA como las xilanasas son frecuentemente utilizadas (O'Neill *et al*, 2012).

Con estos antecedentes, se planteó el presente estudio que incluyó 5 experimentos *in vitro* y un experimento *in vivo* para evaluar la combinación uno a uno de HGM y LM sobre el comportamiento productivo del pollo.

2. JUSTIFICACIÓN

La fermentación húmeda del maíz genera co-productos como la HGM y LM, que pueden ser usados en la nutrición animal (Rochell, 2011)¹⁷. La inclusión de estos co-productos en las dietas avícolas, se ha visto limitado por el alto contenido de polisacáridos no amiláceos (PNA) a pesar de que su utilización ayuda a reducir el costo de alimentación (Rochell, 2011).

Con el objetivo de incrementar el valor alimenticio de la HGM en dietas para pollos de engorda, se realizaron cinco experimentos *in vitro* y un experimento *in vivo* con la finalidad de evaluar la digestibilidad de MS, FAD y EB de la combinación uno a uno de HGM con LM natural y LM fermentado sin y con enzimas carbohidrasas (CH) para PNA.

3. HIPÓTESIS

1. La digestibilidad *in vitro* de materia seca de la HGM, se verá incrementada al utilizar diferentes estrategias (con y sin enzima CH, LM natural y LM fermentado por 24 horas al 0, 10, 20% en combinación con 100, 90, 80% HGM respectivamente) de inclusión en la dieta para pollos.
2. Incrementar la biodisponibilidad *in vivo* del contenido alimenticio de la HGM en combinación con el LM (1:1).

4. OBJETIVOS

4.1 Objetivo general

Evaluar *in vitro* e *in vivo* el LM sin y con fermentación (24hrs) y carbohidrasas para PNA, para incrementar el valor alimenticio de HGM en relación uno a uno en dietas para pollos de engorda.

4.2 Objetivos específicos

1. Desarrollo de estrategias que permitan incrementar el valor nutricional de la HGM.
2. Uso de digestibilidades *in vitro* que evaluaron diferentes estrategias (enzimas CH para PNA, LM natural y LM fermentado) para incrementar la digestibilidad de MS, FDN y EB de la HGM.
3. Se seleccionó la estrategia más prometedora en combinación uno a uno, en el comportamiento productivo de los pollos de engorda.

5. MATERIAL Y MÉTODOS

El presente trabajo se dividió en dos etapas. La primera consistió en una serie de experimentos *in vitro* y la segunda de una experimentación *in vivo*. Los experimentos *in vitro* se realizaron en el Laboratorio de Investigación de la Compañía ADM Animal Nutrition en Quincy Estados Unidos de América. Mientras que el trabajo experimental *in vivo* en pollos de engorda, se desarrolló en el Centro de Investigación de ADM en Mendon Estados Unidos de América.

5.1 Experimentos *in vitro*

Se llevaron a cabo 5 experimentos *in vitro* con 3 o 6 réplicas por tratamiento. Se aplicaron las metodologías de digestibilidad *in vitro* de la materia orgánica IVF64V2 utilizado por ADM Animal Nutrition, procedimientos basados en los métodos de predicción de la digestibilidad de la materia orgánica realizadas por Boisen y Fernández (1997) y Noblet y Peyraud (2007). Para la elaboración de estos experimentos se utilizó maíz, ingrediente altamente digestible, como grupo control, además; se evaluó la combinación de la HGM al 100, 90 y 80% con 0, 10 y 20% LM natural o fermentado respectivamente, con y sin CH para polisacáridos no amiláceos.

5.1.1 Preparación de las muestras

Las muestras que se utilizaron en los 5 experimentos de digestibilidad *in vitro* fueron maíz como control, por su alta digestibilidad, y la HGM como ingrediente a evaluar, ambas fueron molidas para alcanzar un tamaño de partícula de 1 mm (Boisen y Fernández, 1997), posteriormente se pesó entre 1 y 2 gramos de muestra, la cual fue colocada en una bolsa previamente pesada de 10 cm por 20 cm de Ankom Dacron. Cada una de las muestras fue analizada por triplicado (Noblet y Peyraud, 2007).

5.1.2 Procedimiento

El procedimiento para las pruebas *in vitro* constó de 5 etapas, las cuales fueron:

1. Digestión ácida

2. Digestión enzimática
3. Digestión por fermentación (simulación de la fermentación microbiana de la fibra, que tiene lugar en el intestino grueso)
4. Digestión de grasas
5. Secado de muestras

Para la digestión ácida la muestra fue sometida a condiciones similares a las del estómago, es decir, un ambiente con pH ácido y con enzima de actividad proteolítica. Primeramente, se preparó cada una de las jarras (refractario de vidrio hermético de 3 litros de capacidad). Para ello, se añadió en cada una de ellas 25 ml de buffer fosfato 0.1 M (pH 6.0), se agregó 10 ml de HCl 0.2 M, se ajustó el pH a 2.0 usando una solución de NaOH 1M o HCl 1M, finalmente se añadió 1ml de solución de pepsina. Para finalizar se ingresó cada una de las muestras en la jarra correspondiente de acuerdo a su tratamiento y se incubó por un periodo de dos horas en las cámaras de calentamiento controlado por termostato a 39 °C.

Después de las dos horas de incubación, se inició la etapa de digestión enzimática. Se adicionó a cada una de las jarras 10 ml de buffer fosfato 0.2 M (pH 6.8) + 5 ml de solución de hidróxido de sodio 0.6 M, por último, se mezcló cuidadosamente con 1 ml de preparado fresco de solución pancreática. El objetivo de utilizar la solución pancreática es completar la digestión final de las proteínas y carbohidratos. Nuevamente las muestras fueron sometidas a un periodo de incubación de 4 horas a 39 °C en las cámaras de calentamiento controlado por termostato.

Concluido el segundo periodo de incubación, dio inició la etapa de digestión por fermentación. Se añadió en las jarras una mezcla de 10 ml de solución EDTA 0.2 M (ácido etilendiaminotetraacético), posteriormente se ajustó el pH a 4.8 con una solución de ácido acético al 30% y se concluyó adicionando las enzimas CH para PNA que fueron utilizadas en este experimento, que cuentan con una actividad enzimática de 103,000 U/g de xilanasa, 128,000 U/g de celulasa y 33,000 U/g de beta-Glucanasa, se utilizó una dosis de 1g de enzimas por 10g de muestra. A continuación se incubaron nuevamente las jarras a 39 °C por 18 horas en las cámaras de calentamiento controlado por termostato (Boisen y Fernández, 1997).

Finalizando el tercer y último periodo de incubación, se agregó 1 ml de PMSF (fluoruro de fenilmetilsulfonilo) y se dejó reposar por 2 minutos a temperatura ambiente, a continuación, se vertió el líquido del interior de las jarras, dando inicio a la fase de digestión de grasas, se colocaron las muestras en un refractario hondo para ser bañadas con un litro de etanol (95.0%), acetona (99.5%) y agua destilada, respectivamente, dejándolas reposar durante 2 minutos cada uno.

Posteriormente se ingresaron las bolsas a un horno seco a 103 °C (Noblet y Peyraud, 2007) por toda la noche, para ser secadas.

Finalmente, se realizó el pesaje de las bolsas, para efectuar el cálculo del porcentaje de digestibilidad de materia seca (MS), que se presenta a continuación.

$$\% \text{ Digestibilidad de MS} = \frac{\text{Peso de la muestra inicial} - \text{peso del residuo}}{\text{Peso de la muestra inicial}} \times 100$$

Cuando se usó la HGM en combinación con LM (10 y 20%), se utilizó la fórmula descrita a continuación, con la finalidad de conocer el impacto del tratamiento sobre la digestibilidad *in vitro* de MS de la HGM.

$$\% \text{ Digestibilidad real del HGM} = \frac{[\% \text{ Digestibilidad } \textit{in vitro} \text{ de la mezcla} - (\% \text{ de Digestibilidad } \textit{in vitro} \text{ de LM} * \% \text{ MS del LM})]}{\% \text{ MS de HGM}}$$

Utilizando los análisis de laboratorio para fibra detergente neutra (FDN) y energía bruta (EB) de las muestras nativas (na) (cada una de las mezclas iniciales a evaluar, por ejemplo, la combinación 90% HGM + 10% LM) y de los residuos (re) de las digestibilidades de las muestras nativas de cada experimento, se calculó, cuando hubo residuo suficiente, la digestibilidad de la FDN y EB. Para los análisis de digestibilidad de la FDN y EB del residuo, se colocaron el restante obtenido de los triplicados al final de la digestibilidad *in vitro* en un solo frasco, analizándola primero para FDN y posteriormente para EB (en caso de contar con muestra suficiente). Se denominó PM al peso en gramos de la muestra y m a la suma del peso en gramos de la muestra nativa, utilizando estos datos se efectuaron las siguientes formulas:

$$(Suma PMna * \%FDNna) - (Suma PMre * \%FDNre)$$

$$\% \text{ Digestibilidad FDN} = \frac{\text{-----}}{\%FDNm} \times 100$$

$$(Suma PMna * \%EBna) - (Suma PMre * \%EBre)$$

$$\% \text{ Digestibilidad EB} = \frac{\text{-----}}{\%EBm} \times 100$$

5.1.3 Análisis de laboratorio

Se envió un conjunto de las muestras utilizadas en cada experimento *in vitro* (nativas y de sus respectivos residuos) al Laboratorio de Investigación ADM Animal Nutrition en Quincy, Illinois para el análisis de humedad, MS, EB, FDN, FAD, proteína cruda (PC), extracto etéreo (EE), lignina y almidón. También una muestra de licor de maíz de cada experimento para el análisis de cenizas, humedad, pH, EB, FDN, FAD, PC, EE y almidón.

5.1.4 Experimento 1: Efecto de las enzimas CH para PNA sobre el porcentaje de digestibilidad *in vitro* de la MS, FDN y EB de la HGM

El primer experimento, se realizó con el objeto de evaluar el efecto de las enzimas CH, que cuentan con una actividad enzimática de 103,000 U/g de xilanasas, 128,000 U/g de celulasa y 33,000 U/g de beta-Glucanasa, sobre la digestibilidad *in vitro* de materia seca de la HGM. Para la elaboración de este experimento, se utilizaron 3 jarras con 3 réplicas cada una. Las réplicas se obtuvieron de la siguiente manera, se utilizaron 3 bolsas de Ankom Dacron de 10 cm por 20 cm, previamente pesadas, se añadió 2.5 gramos de HGM a cada bolsa, a continuación, estas fueron introducidas a la jarra 1. Se repitió el mismo procedimiento para las jarras 2 y 3. En la jarra número 1 se evaluó la digestibilidad *in vitro* de la HGM sin enzimas CH para PNA, para las jarras 2 y 3 se utilizaron la inclusión de enzimas CH para PNA (1 g de enzima por 10 g de muestra) para evaluar su efecto sobre la digestibilidad de la MS de la HGM.

5.1.5 Experimento 2: Digestibilidad *in vitro* de la MS del LM

El experimento 2, se efectuó con el objetivo de conocer la digestibilidad *in vitro* promedio de MS del LM natural. Se utilizó una jarra con 9 réplicas. Se pesó un gramo de LM por réplica o bolsa de Ankom Dacron.

5.1.6 Experimento 3: Efecto de la inclusión del LM al 0, 10 y 20%, con y sin enzimas CH para PNA sobre la digestibilidad de la MS, FDN y EB de la HGM

Con la finalidad de evaluar el efecto de diferentes combinaciones de LM natural con y sin enzimas CH para PNA sobre la digestibilidad *in vitro* de la HGM, se utilizó un arreglo factorial 3 (0, 10 y 20% de LM natural en combinación con 100, 90 y 80% de HGM respectivamente) x 2 (con y sin enzimas CH para PNA), utilizando 6 jarras con 6 réplicas por tratamiento. Colocando 2 gramos de cada combinación en bolsas individuales de Ankom Dacron.

En las primeras tres jarras se utilizaron las proporciones 0:100, 10:90 y 20:80 de LM natural: HGM respectivamente sin la adición de CH para PNA, por otro lado, en las

jarras 4 a 6 se utilizaron las mismas proporciones anteriormente mencionadas, pero con la inclusión de CH para PNA.

5.1.7 Experimento 4: Efecto del LM fermentado a 12 y 24 horas con enzimas CH para PNA sobre la digestibilidad *in vitro* de la HGM

Se realizó mediante un arreglo factorial 3 (0%, 10% y 20% LM fermentado en combinación con 100, 90 y 80% de HGM respectivamente) x 2 (12 y 24 horas de fermentación) donde se utilizaron 6 jarras con 3 réplicas por tratamiento. En la jarra 1 se evaluó la digestibilidad *in vitro* de la HGM con CH y con 0% LM fermentado, en las jarras 2 y 3 se utilizó LM fermentado (consistió en poner en reposo la mezcla HGM + LM por 12 o 24 horas en un recipiente de plástico hermético) a 12 horas al 10 y 20% en combinación con 90 y 80% HGM respectivamente, por último, en las jarras 4 y 5 se utilizó la inclusión al 10 y 20% de LM fermentado a 24 horas con 90 y 80% de HGM correspondientemente, en todos los tratamientos se usó la inclusión de CH para PNA.

5.1.8 Experimento 5: Efecto de la utilización de LM natural y LM fermentado a 24 horas con y sin enzimas CH para PNA sobre la digestibilidad *in vitro* de la HGM

Se empleó un diseño completamente aleatorizado con arreglo factorial 2 (0 y 20% LM natural en combinación con 100 y 80% HGM respectivamente) x 2 (con y sin enzimas CH para PNA) x 2 (0 y 24 horas de fermentación), donde se utilizaron 8 jarras con 3 réplicas por tratamiento. En la jarra número 1 y 2 se utilizó 0 y 20% LM natural en combinación con 100 y 80% HGM respectivamente, sin CH para PNA. En las jarras 3 y 4 se usó nuevamente la inclusión de 0 y 20% LM natural en combinación con 100 y 80% HGM, correspondientemente, pero ahora con la adición de CH para PNA. Para las jarras 5 y 6 se evaluó 0 y 20% LM fermentado a 24 horas en combinación con 100 y 80% HGM, respectivamente, sin CH para PNA y finalmente en las jarras 7 y 8 se utilizó los mismos tratamientos que en la jarra 5 y 6, anteriormente descritos, pero ahora se usó la inclusión de CH para PNA.

5. 2 Experimento *in vivo* con pollos de engorda

Se utilizaron un total de 350 pollos machos Ross 708 de un día de edad, que fueron adquiridos de la incubadora Welp en Bancroft, Iowa. Se seleccionaron 240 pollos de los 350 iniciales para el desarrollo de este proyecto. El criterio de selección fue en base al peso corporal inicial, eligiendo pollos a los 5 días de edad entre los 94 y 114 gramos.

Se utilizó un diseño experimental completamente al azar con 6 tratamientos, como se describe en el Cuadro 1, los cuales se distribuyeron en un arreglo factorial 3 (dietas; HGM + agua, HGM + LM y HGM + LM + 24 horas de fermentación) x 2 (con y sin enzimas CH). Cada tratamiento contó con 10 repeticiones. Se tuvo un total de 60 corrales, con 4 pollos cada uno, de 56 cm de largo por 102 cm de ancho, con pisos de alambre, acondicionado viruta de madera como material de cama y temperatura controlada con termostato.

5.2.1 Fases de alimentación

Para el desarrollo de este proyecto se utilizaron tres fases de alimentación, que son descritas en el Cuadro 2.

5.2.2 Dietas experimentales

Todas las dietas experimentales, fueron fabricadas en la planta de alimentos piloto de ADM en forma de harina (Cuadros 3, 4 y 5).

Las carbohidrasas que fueron utilizadas, tenían una actividad enzimática de 103,000 U/g de xilanasas, 128,000 U/g de celulasa y 33,000 U/g de β -glucanasa con dosis de 25 ppm.

La inclusión de HGM y LM en las dietas, fue al 5%, 10% y 20% en las fases de alimentación 1, 2 y 3 respectivamente, manteniendo con ello una relación 1:1.

En los alimentos de los tratamientos 1 y 4, se les añadió agua, con la finalidad de contar con la misma dilución de energía como en aquellas dietas que contenían licor de maíz.

El tratamiento 3 se realizó la mezcla HGM + LM adicionando las enzimas CH para PNA, en el tratamiento 6 las mezclas se colocaron en un recipiente de plástico hermético y se dejaron reposar por un periodo de 24 horas a temperatura ambiente.

5.2.3 Análisis de laboratorio

Se colectaron dos muestras, de 1 kg cada una, por cada dieta experimental y por cada uno de los ingredientes (maíz, pasta de soya, licor de maíz, harina de germen de maíz, harina de germen de maíz fermentada), que se enviaron al laboratorio de investigación Alliance Nutrition en Quincy, Illinois para su análisis de materia seca, proteína cruda y fibra cruda

5.2.4 Registro de consumo de alimento

El pesaje de alimento y de los pollos, se realizó al llegar las aves a la granja, al inicio y final de cada fase de alimentación.

5.2.5 Acceso al consumo de agua

Los pollos contaron con agua potable a libre acceso durante todo el periodo experimental.

5.2.6 Identificación de las aves

Antes de dar inicio a este estudio, todas las aves fueron identificadas con bandas individuales en el ala.

5.2.7 Control de temperatura, programa de iluminación y manejo de las aves

1. Monitoreo y registro diario de las temperaturas mínimas y máximas, con el objetivo cumplir con la establecida en el Cuadro 6. Esta fue registrada al nivel de los pollos, utilizando termómetros digitales.
2. Se proporcionó a las aves un calendario de luz artificial, como se describe en el Cuadro 7.
3. Se realizó una revisión de rutina de los corrales todos los días por la mañana y por la tarde.
4. Registro diario en la bitácora.
5. Limpieza de ventiladores y recirculadores.

5.2.8 Eliminación de animales

Se excluyeron del experimento aves enfermas o muertas, a continuación, fueron pesadas individualmente todas las aves de dicho corral y el comedero para realizar el cálculo de ajuste de las variables productivas.

5.2.9 Análisis estadístico

Se realizaron análisis de la varianza de los resultados mediante diseño experimental completamente al azar de los experimentos *in vitro* 1, 3, 4 y 5 y para arreglo factorial del experimento *in vivo*.

6. RESULTADOS

6.1 Experimentos *in vitro*

6.1.1 Perfil nutricional de los ingredientes

En el Cuadro 8, se muestran los resultados de los análisis del perfil nutricional del maíz, HGM y LM, así como la combinación 50% HGM y 50% LM.

El maíz utilizado en este experimento contó con un 94.9% de MS, **5.1% de humedad**, 82.7% de almidón y contó con una baja cantidad de fibra (2.9% de FDN y 8.0% de FAD).

La HGM con 92.0% de MS, un porcentaje considerable de almidón (26.2%), de aceite (1.7%); además, de ser un ingrediente rico en fibra debido que posee un 13.0% de FDN y 38.3% de FAD.

Por otro lado, el LM es un ingrediente líquido con 48.9% de humedad, un pH de 3.58 proporcionado por la cantidad de ácido láctico con el que esta cuenta (11.6%); asimismo, posee una cantidad alta de PC (30.0%) y de aceite (4.5%).

La combinación de 50% HGM y 50% LM resulta atractiva en cuanto a su concentración de PC (27.9%) y almidón (18.9%).

6.1.2 Experimento 1: Efecto de las enzimas CH para PNA sobre el porcentaje de digestibilidad *in vitro* de la MS, FDN y EB de la HGM

La HGM resultó con una digestibilidad de materia seca promedio del 61.25%, por otro lado, se observó un incremento de hasta el 23.82% en la digestibilidad *in vitro* de materia seca del HGM ($P < 0.001$), cuando se utilizó la inclusión de CH para PNA (Cuadro 9).

En el cálculo de la digestibilidad *in vitro* de la FDN (Cuadro 9) se observó una digestibilidad de tan solo el 38% de la FDN cuando no se utilizó la inclusión de las CH, no obstante, cuando se empleó la inclusión de las CH para PNA incrementó hasta el 76%. Respecto a la digestibilidad de la EB, la utilización de las CH para

PNA incrementó hasta un 20% la digestibilidad de la EB de la HGM comparado con el tratamiento sin CH para PNA (de 64 a 84%).

6.1.3 Experimento 2: Promedio de digestibilidad *in vitro* de MS del LM

El LM natural tuvo un promedio de digestibilidad *in vitro* de materia seca de 99.19%. En el Cuadro 10, se muestran los resultados de la digestibilidad *in vitro* de materia seca de cada una de las 9 muestras del licor de maíz, observándose valores similares.

6.1.4 Experimento 3: Efecto de la inclusión del LM al 0, 10 y 20%, con y sin enzimas CH para PNA sobre la digestibilidad de la MS, FDN y EB de la HGM

La inclusión del LM natural al 0, 10 y 20% no influyó ($P>0.05$) sobre la digestibilidad de la MS, FDN y EB de la HGM. Por otra parte, la adición de enzimas CH para PNA incrementó ($P<0.001$) la digestibilidad de la MS, FDN y EB (Cuadro 11).

6.1.5 Experimento 4: Efecto del LM fermentado 12 y 24 horas con enzimas CH para PNA sobre la digestibilidad *in vitro* de la MS y FDN de la HGM

No se encontraron diferencias ($P>0.05$) en la digestibilidad *in vitro* de la MS y FND de la HGM cuando se utilizó LM fermentado (0, 10 y 20%) con la adicción de CH para PNA (Cuadro 12).

6.1.6 Experimento 5: Efecto de la utilización de LM natural y LM fermentado a 24 horas con y sin enzimas CH para PNA sobre la digestibilidad *in vitro* de la MS y FDN de la HGM

En el Cuadro 13, se presenta el efecto del LM natural y fermentado a 24 horas con o sin la adición de enzimas sobre la digestibilidad *in vitro* de materia seca del HGM y de la FDN.

No se observaron diferencias ($P>0.05$) sobre la digestibilidad *in vitro* de MS o FDN del HGM cuando se utilizó la inclusión de LM natural o LM fermentado a 0 y 20%. Por otro lado, se observaron diferencias ($P<0.001$) entre aquellos tratamientos donde se utilizaron CH para PNA al compararlos con aquellos tratamientos en donde no se utilizaron.

La inclusión de las CH para PNA incrementó alrededor de un 60% de la digestibilidad *in vitro* de la FDN, mientras que la MS el incremento fue cercano al 50% (Cuadro 13).

6.2 Experimento *in vivo* con pollos de engorda

6.2.1 Parámetros productivos

6.2.1.1 Consumo de alimento

En el Cuadro 14, se muestra el consumo de alimento de los pollos de engorda en las diferentes fases de alimentación.

No se observaron diferencias ($P>0.05$) entre factores LM natural y fermentado sin y con enzimas CH en el consumo de alimento en los pollos de engorda durante las primeras dos fases de alimentación.

Sin embargo, durante la fase tres, se obtuvo un incremento ($P<0.05$) en el consumo de alimento, cuando se utilizó la inclusión de LM (natural o fermentado) ($P<0.05$). Por otro lado, no se detectaron diferencias ($P>0.05$) en el consumo sin y con la adición de enzimas CH para PNA.

Al evaluar el experimento completo, se encontraron diferencias ($P<0.05$), entre los alimentos que contenían LM (natural o fermentado: 5393 ± 53 y 5270 ± 55 , respectivamente) al compararlo con el alimento que no incluía el LM (5103 ± 53).

Por otra parte, la adición de enzimas no mostro diferencias ($P>0.05$) en el consumo de los pollos.

6.2.1.2 Ganancia de peso

En el Cuadro 15 presenta la ganancia de peso en gramos en las diferentes fases de alimentación.

Respecto a la ganancia de peso de los pollos de engorda, no se detectaron diferencias ($P>0.05$) entre factores durante las fases 1 y 2.

Por otro lado, se observó diferencia estadística en el incremento de la ganancia de peso (GP) durante la fase 3. Pero en los tratamientos en donde se utilizó la inclusión de LM natural o LM fermentado ($P>0.05$) no se encontró efecto a la inclusión de enzimas CH para PNA ($P>0.05$).

Además, de los 6 a los 50 días de edad, tampoco se encontraron diferencias ($P>0.05$) entre los tratamientos sin y con CH, pero si ($P<0.05$) cuando se utilizó la inclusión de LM natural al ser mejor.

6.2.1.3 Conversión alimenticia

En el Cuadro 16, se muestra la conversión de los pollos de engorda en las diferentes fases de alimentación.

Se aprecia que la conversión alimenticia, mejoró durante la fase 2 con la utilización de LM natural o fermentado. Pero no se afectó ($P>0.05$) durante fase 1 y 3 por los factores estudiados (LM natural o fermentado) y a la inclusión de enzimas CH para PNA.

7. DISCUSIÓN

7.1 Experimentos *in vitro*

La HGM es un ingrediente fibroso con una baja digestibilidad *in vitro* de la materia seca (61.25%), que posee una energía metabolizable de 1650 Kcal/Kg (Archer Daniels Midland Company, 2016). Debido a la presencia del germen en la HGM, se determinó en los análisis de laboratorio en esta muestra un porcentaje de 26.23% de almidón, valor superior al obtenido por Rochell *et al*, (2011) de 15.29%, además posee un 1.65% de aceite, caracterizándolo como un ingrediente energético, como lo describieron Milošević *et al*, (2011). Un estudio realizado por Rochell *et al*, (2011) determinó que la HGM cuenta con 10.87% de humedad, valor similar al reportado en este análisis (7.93%). Por otro lado, Rojas *et al*, (2013) realizaron un estudio donde determinaron el valor de EB de la HGM el cual fue de 4,184 Kcal/kg, valor inferior al obtenido por Rochell *et al*, (2011) de 4,767 Kcal/Kg, teniendo la muestra de este estudio un valor intermedio a dichos resultados que fue de 4,573 Kcal/Kg.

Por otro lado, el LM es un ingrediente altamente digestible como lo demuestran los resultados de la muestra analizada (99.19%) y los reportes que indican un contenido de energía metabolizable de 1595 Kcal/kg (Tekchandani *et al*, 1999).

La digestibilidad *in vitro* es un proceso en el cual la muestra, es expuesta a condiciones similares presentes en el tracto gastrointestinal (ácido clorhídrico, pH, enzimas proteolíticas y fibrolíticas). Una característica que posee este método, es la capacidad de predecir con precisión la digestibilidad *in vivo* de los ingredientes utilizados en nutrición animal (Noblet y Peyraud, 2007). En el presente estudio, se determinó la digestibilidad *in vitro* de materia seca de la HGM (61.25%), el valor obtenido fue similar al reportado por Jaworski *et al*, (2015) que fue del 61%.

Por otro lado, ha sido ampliamente estudiado el mecanismo de acción que poseen las enzimas CH para PNA. La fracción de PNA, presentes en el grano, protege a los lípidos, al almidón y a la proteína, comprometiendo el acceso de las enzimas digestivas a los componentes dietarios (Mirzaie *et al*, 2011). Las CH para PNA rompen las cadenas de los polisacáridos no amiláceos (Malathi y Devegowda,

2001), presentes principalmente en la pared celular del endospermo, eliminando su barrera física, facilitando la digestión de los nutrientes encapsulados en ella (Kaczmarek *et al*, 2014), mejorando el valor nutritivo (como es el energético) del ingrediente. Las enzimas CH para PNA utilizadas en este estudio digirieron el 76% de la FDN (38% superior al grupo control), motivo por el cual se observó un incremento considerable (del 25%) en la digestibilidad *in vitro* de materia seca de la HGM, obteniendo un valor superior de digestibilidad *in vitro* de EB (84%).

El LM es un ingrediente líquido que posee 49% de humedad, valor similar al encontrado por Xiao *et al*, (2012), contiene con una gran cantidad de nutrientes solubles (Davis, 2001). Una ventaja importante de los ingredientes líquidos es mejorar la utilización de nutrientes (Meried, 2014). El LM, utilizado en esta evaluación, es un ingrediente líquido y rico en nutrientes, que cuenta con una alta digestibilidad *in vitro* de materia seca (99.19%).

No se observaron diferencias en la digestibilidad *in vitro* de MS entre tratamientos con diferentes niveles de inclusión de LM como resultado no se encontraron cambios en la digestibilidad *in vitro* de FDN cuando se utilizaron los diferentes niveles de inclusión del LM.

Por otro lado, las enzimas CH para PNA, utilizadas en este estudio, incrementaron en la HGM la digestibilidad del FDN en 18%, la digestibilidad *in vitro* de materia seca en 31.18% y la de EB en 17%.

Cuando se evaluó la inclusión de LM fermentado a 12 horas al 10 y 20% con CH para PNA no se observaron cambios en la digestibilidad *in vitro* de FDN (76 y 78% respectivamente). Tampoco se presentó un incremento de la digestibilidad de FDN cuando se analizó el LM fermentado a 24 horas al 10 y 20%. La utilización de LM fermentado a 12 y 24 horas no tuvo un efecto aditivo o potencializado en la actividad de las enzimas CH para PNA sobre la digestión de la fibra.

Al igual que los anteriores estudios tanto el LM natural como el LM fermentados no tuvieron influencia sobre la digestibilidad de la FDN de la HGM. Sin embargo, la

actividad de las CH para PNA incrementó la digestibilidad *in vitro* de materia seca de la HGM un 28%.

7.2 Experimento *in vivo* con pollos de engorda

El uso de CH para PNA en dietas para pollos de engorda no incrementó el consumo de alimento (Zhang *et al*, 2014), de igual manera se observó en el presente experimento con la inclusión de CH, de los 6 a los 50 días.

Por otro lado, la utilización de LM natural o fermentado estimuló el consumo de alimento de los 6 a los 50 días de edad, probablemente por un incremento de la palatabilidad de las dietas. En estudios realizados en otras especies (cerdos y ganado) utilizando LM se ha observado un mayor consumo de alimento relacionado al incremento de la palatabilidad de la dieta (Lusby *et al*, 1981). En cerdos, se observó la relación entre el porcentaje de humedad en la dieta con el incremento de consumo de alimento (Meried, 2014).

Ha sido ampliamente estudiado la utilización de CH para PNA en pollos de engorda y su efecto en el aumento de la ganancia de peso (Adeola y Cowieson, 2011). No obstante, no se presentó un incremento en esta variable de los 6 a los 50 días de edad; probablemente debido a que se subestimó la dosificación de la CH para PNA utilizada en este estudio.

Además, no se encontraron diferencias en la ganancia de peso, de los 6 a los 50 días de edad, cuando se utilizó la inclusión de LM fermentado a 24 horas. Shurson *et al*, (2009) observaron durante un estudio, la presencia de algunas bacterias en ingredientes fermentados, principalmente de coliformes y en menor proporción lactobacilos, estas pueden realizar una pérdida de aminoácidos libres o sintéticos disponibles en el ingrediente de hasta el 17% en 24 horas, especialmente cuando el pH del ingrediente líquido es menor a 4.5. El LM utilizado en este estudio tuvo un pH de 3.8, probablemente la falta de efecto en la ganancia de peso en el tratamiento LM fermentado a 24 horas fue a lo descrito anteriormente.

Una característica de la HGM es la capacidad de absorber nutrientes líquidos (Davis, 2001). Cabe mencionar que el LM evaluado en este estudio tenía un

porcentaje alto de PC (29.97%), extracto etéreo (4.49%) y almidón (11.53%). Además, una ventaja de la utilización de ingredientes líquidos es la alta biodisponibilidad de los nutrientes presentes en él, ayudando a incrementar la ganancia de peso (Meried, 2014), como se pudo observar en el experimento *in vitro* realizado en este estudio, la utilización de LM no tuvo efecto sobre la digestibilidad de la fibra de la HGM, el efecto se observó durante el global de la prueba *in vivo* en el incremento de la ganancia de peso en los pollos de engorda, debido a las características nutritivas del LM natural transportado por la HGM.

No se observaron diferencias en la conversión alimenticia en ninguno de los tratamientos, de los 6 a los 50 días de edad, utilizados en este experimento *in vivo*, sin tener una explicación para este hecho, basada en argumentos científicos.

8. CONCLUSIONES

De los resultados obtenidos bajo las condiciones experimentales se puede concluir:

Experimentos *in vitro*

La HGM es un ingrediente fibroso (FDN 13% y FAD 38.3%), cuenta con un alto porcentaje de almidón (26%) y extracto etéreo (1.65%).

Por otro lado, el LM es un ingrediente altamente digestible (99.19%). La combinación LM natural o LM fermentado al 10 o 20% con 90 y 80% de HGM respectivamente, no favorece la digestibilidad *in vitro* de materia seca, de la FDN ni de la EB de la HGM. Además, no se encontraron diferencias entre el LM fermentado a 12 y 24 horas sobre la digestibilidad *in vitro* de la HGM.

Sin embargo, una excelente herramienta para incrementar la digestibilidad *in vitro* de materia seca, FDN y EB fueron las CH para PNA, aumentando la digestibilidad *in vitro* de MS de la HGM hasta un 86%.

Experimento *in vivo* con pollos de engorda

No se encontraron coincidencias de las pruebas *in vitro* con la prueba *in vivo*.

La adición en el alimento CH para PNA no tuvieron efecto alguno sobre la ganancia de peso ni conversión alimenticia. Debido a los resultados observados en el experimento *in vitro*, es posible que la dosis utilizada en el experimento *in vivo* fuera muy baja.

Sin embargo, la combinación HGM + LM natural uno a uno incrementó el valor energético reflejado en mayor ganancia de peso lo que indica el potencial de estos co-productos para ser utilizados como ingredientes alternativos en dietas para pollo de engorda. La combinación HGM + LM se pueden incluir en dietas para pollos de engorda hasta en un 20% de cada uno, es decir una relación uno a uno.

CUADROS

Cuadro 1. Diseño experimental empleado en el experimento *in vivo*

T	Dieta	Enzimas CH
1	Harina de germen de maíz + agua	Sin
2	Harina de germen de maíz + licor de maíz	Sin
3	Harina de germen de maíz + licor de maíz + 24 horas de fermentación	Sin
4	Harina de germen de maíz + agua	Con
5	Harina de germen de maíz + licor de maíz	Con
6	Harina de germen de maíz + licor de maíz + 24 horas de fermentación	Con

Cuadro 2. Fases de alimentación utilizadas en el experimento

Fase	Duración (días)	Días de edad
1	7	6 al 13
2	14	14 al 28
3	22	29 al 50

Cuadro 3. Composición de las dietas experimentales en la fase 1 (6-13 días)

Ingrediente, %	T1	T2	T3	T4	T5	T6
	Sin enzimas CH			Con enzimas CH		
	0% LM	LM natural	LM ferm	0% LM	LM natural	LM ferm
Maíz	49.98	47.83	47.83	48.98	45.33	45.33
Pasta de soya 47.5%	37.05	35.55	35.55	37.05	35.55	35.55
Aceite de soya (desgomado)	2.50	2.50	2.50	2.50	2.50	2.50
HGM	5.00	5.00	5.00	5.00	5.00	5.00
LM	----	5.00	5.00	----	5.00	5.00
Agua	2.35	----	----	2.35	----	----
CH, g ¹	----	----	----	0.25	0.25	0.25
L-Lisina-HCl 98%	0.12	0.14	0.14	0.12	0.14	0.14
DL- Metionina 99.5%	0.14	0.13	0.13	0.14	0.13	0.13
L- Treonina 98.5%	0.07	0.06	0.06	0.07	0.06	0.06
Carbonato de calcio 38%	1.40	1.45	1.45	1.40	1.45	1.45
Fosfato monocálcico 21%	1.65	1.60	1.60	1.65	1.60	1.60
Sal	0.35	0.35	0.35	0.35	0.35	0.35
Bicarbonato de sodio	0.10	0.10	0.10	0.10	0.10	0.10
Sulfato de cobre 25.2% ²	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Sulfato de hierro 30% ²	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01
Selenio 0.06%	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05
Cloruro de colina 70%	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05
Coban 200 ³	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05
Premezcla de Minerales*	0.03	0.03	0.03	0.03	0.03	0.03
Premezcla de Vitaminas**	0.10	0.10	0.10	0.10	0.10	0.10
NUTRIENTE	Análisis calculado					
EM, Kcal/Kg	2,894	2,897	2,897	2,894	2,897	2,897
Materia seca, %	86.01	86.01	86.01	86.01	86.01	86.01
Humedad, %	13.99	13.99	13.99	13.99	13.99	13.99
Proteína cruda, %	22.27	22.27	22.27	22.27	22.27	22.27
Extracto etéreo, %	4.60	4.64	4.64	4.60	4.64	4.64
Fibra cruda, %	2.73	2.65	2.65	2.73	2.65	2.65
Fibra detergente neutra, %	8.52	8.36	8.36	8.52	8.36	8.36
Calcio, %	0.98	0.99	0.99	0.98	0.99	0.99
Fósforo disponible, %	0.46	0.47	0.47	0.46	0.47	0.47
Lisina digestible, %	1.23	1.23	1.23	1.23	1.23	1.23
Metionina digestible, %	0.46	0.46	0.46	0.46	0.46	0.46

*La premezcla proporciona por kg: Cobre 25 mg; Yodo 30 mg; Manganeso 90 mg; Selenio 0.3 mg; Zinc 100 mg; Excipiente cbp. 100.0g; ** La premezcla proporciona por kg: Vitamina A 12,000 UI; Vitamina D3 3,500 UI; Vitamina E 16 UI; Biotina 0.2 mg, Colina 300 mg; Ácido fólico 1 mg; Vehículo cbp. 1.000.00g; ¹Inclusion de enzimas CH se realizó sin ningún valor nutricional; ²Aditivos promotores del crecimiento; ³Coccidiostato.

Cuadro 4. Composición de las dietas experimentales en la fase 2 (14-28 días)

Ingrediente, %	T1	T2	T3	T4	T5	T6
	Sin enzimas CH			Con enzimas CH		
	0% LM	LM natural	LM ferm	0% LM	LM natural	LM ferm
Maíz	44.38	41.16	41.16	44.38	41.16	41.16
Pasta de soya 47.5%	32.45	30.65	30.65	32.45	30.65	30.65
Aceite de soya (desgomado)	4.50	4.50	4.50	4.50	4.50	4.50
HGM	10.00	10.00	10.00	10.00	10.00	10.00
LM	----	10.00	10.00	----	10.00	10.00
Agua	4.95	----	----	4.95	----	----
CH, g ¹	----	----	----	0.25	0.25	0.25
L-Lisina-HCl 98%	----	----	----	----	----	----
DL- Metionina 99.5%	0.08	0.05	0.05	0.08	0.05	0.05
L- Treonina 98.5%	----	----	----	----	----	----
Carbonato de calcio 38%	1.35	1.45	1.45	1.35	1.45	1.45
Fosfato monocálcico 21%	1.55	1.45	1.45	1.55	1.45	1.45
Sal	0.35	0.35	0.35	0.35	0.35	0.35
Bicarbonato de sodio	0.10	0.10	0.10	0.10	0.10	0.10
Sulfato de cobre 25.2% ²	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Sulfato de hierro 30% ²	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01
Selenio 0.06%	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05
Cloruro de colina 70	0.04	0.04	0.04	0.04	0.04	0.04
Coban 200 ³	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05
Premezcla de Minerales*	0.03	0.03	0.03	0.03	0.03	0.03
Premezcla de Vitaminas**	0.10	0.10	0.10	0.10	0.10	0.10
NUTRIENTE	Análisis calculado					
EM, Kcal/Kg	2885	2886	2886	2885	2886	2886
Materia seca, %	83.99	84.39	84.39	83.99	84.39	84.39
Humedad, %	16.01	15.61	15.61	16.01	15.61	15.61
Proteína cruda, %	20.50	20.90	20.90	20.50	20.90	20.90
Extracto etéreo, %	6.57	6.62	6.62	6.57	6.62	6.62
Fibra cruda, %	2.77	2.65	2.65	2.77	2.65	2.65
Fibra detergente neutra, %	9.81	9.53	9.53	9.81	9.53	9.53
Calcio, %	0.96	0.98	0.98	0.96	0.98	0.98
Fósforo disponible, %	0.45	0.45	0.45	0.45	0.45	0.45
Lisina digestible, %	1.04	1.04	1.04	1.04	1.04	1.04
Metionina digestible, %	0.39	0.39	0.39	0.39	0.39	0.39

*La premezcla proporciona por kg: Cobre 25 mg; Yodo 30 mg; Manganeso 90 mg; Selenio 0.3 mg; Zinc 100 mg; Excipiente cbp. 100.0g; ** La premezcla proporciona por kg: Vitamina A 12,000 UI; Vitamina D3 3,500 UI; Vitamina E 16 UI; Biotina 0.2 mg, Colina 300 mg; Ácido fólico 1 mg; Vehículo cbp. 1.000.00g; ¹Inclusión de enzimas CH se realizó sin ningún valor nutricional; ²Aditivos promotores del crecimiento; ³Cocciostato.

Cuadro 5. Composición de las dietas experimentales en la fase 3 (29-50 días)

Ingrediente, %	T1	T2	T3	T4	T5	T6
	Sin enzimas CH			Con enzimas CH		
	0% LM	LM natural	LM ferm	0% LM	LM natural	LM ferm
Maíz	36.03	30.72	30.72	36.03	30.72	30.72
Pasta de soya 47.5%	25.60	20.05	20.05	25.60	20.05	20.05
Aceite de soya (desgomado)	6.00	6.00	6.00	6.00	6.00	6.00
HGM	20.00	20.00	20.00	20.00	20.00	20.00
LM	----	20.00	20.00	----	20.00	20.00
Agua	9.00	----	----	9.00	----	----
CH, g	----	----	----	2.50	2.50	2.50
L-Lisina-HCl 98%	----	----	----	----	----	----
DL- Metionina 99.5%	0.04	----	----	0.04	----	----
L- Treonina 98.5%	----	----	----	----	----	----
Carbonato de calcio 38%	1.45	1.60	1.60	1.45	1.60	1.60
Fosfato monocálcico 21%	1.15	0.90	0.90	1.15	0.90	0.90
Sal	0.35	0.35	0.35	0.35	0.35	0.35
Bicarbonato de sodio	0.10	0.10	0.10	0.10	0.10	0.10
Sulfato de cobre 25.2%	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Sulfato de hierro 30%	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01
Selenio 0.06%	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05
Cloruro de colina 70	0.03	0.03	0.03	0.03	0.03	0.03
Coban 200	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05
Premezcla de Minerales	0.03	0.03	0.03	0.03	0.03	0.03
Premezcla de Vitaminas	0.10	0.10	0.10	0.10	0.10	0.10
NUTRIENTE						
Análisis calculado						
EM, Kcal/Kg	2741	2733	2733	2741	2733	2733
Materia seca, %	80.76	80.76	80.76	80.76	80.76	80.76
Humedad, %	19.24	19.27	19.27	19.24	19.27	19.27
Proteína cruda, %	19.00	19.01	19.01	19.00	19.01	19.01
Extracto etéreo, %	7.88	7.99	7.99	7.88	7.99	7.99
Fibra cruda, %	3.21	2.92	2.92	3.21	2.92	2.92
Fibra detergente neutra, %	12.63	12.01	12.01	12.63	12.01	12.01
Calcio, %	0.91	0.91	0.91	0.91	0.91	0.91
Fósforo disponible, %	0.36	0.36	0.36	0.36	0.36	0.36
Lisina digestible, %	0.92	0.88	0.88	0.92	0.88	0.88
Metionina digestible, %	0.33	0.34	0.34	0.33	0.34	0.34

*La premezcla proporciona por kg: Cobre 25 mg; Yodo 30 mg; Manganeso 90 mg; Selenio 0.3 mg; Zinc 100 mg; Excipiente cbp. 100.0g; ** La premezcla proporciona por kg: Vitamina A 12,000 UI; Vitamina D3 3,500 UI; Vitamina E 16 UI; Biotina 0.2 mg, Colina 300 mg; Ácido fólico 1 mg; Vehículo cbp. 1.000.00g; ¹Inclusión de enzimas CH se realizó sin ningún valor nutricional; ²Aditivos promotores del crecimiento; ³Coccidiostato.

Cuadro 6. Temperaturas mínimas y máximas en la caseta durante la crianza

Edad (días)	Rango de temperatura, °C	
	Mínima	Máxima
1-8	29	32
9-15	27	29
16-24	24	26
25-32	22	24
33-50	19	21

Cuadro 7. Calendario de luz utilizado en el experimento *in vivo* con pollos

Edad (días)	Intensidad de la luz, (Luxes)	Tiempo
1-6	20	23 horas/día
7-14	5	14 horas/día = 05:00-19:00
15-21	5	12 horas/día = 05:00-17:00
22-28	5	10 horas/día = 05:00-15:00
29-50	5	8 horas/día = 06:00-14:00

Trabajo experimental *in vitro*

Cuadro 8. Perfil nutricional del maíz, harina de germen de maíz, licor de maíz y 50% HGM + 50% LM

Nutrientes	Ingredientes			
	Maíz	HGM	LM	50% HGM + 50% LM
Materia seca, %	94.9	92.1	51.1	71.7
Humedad, %	5.1	7.9	48.9	28.4
Fibra detergente neutra, %	2.9	13.0	0.8	6.9
Fibra detergente acida, %	8.0	38.3	0.9	19.6
Cenizas, %	1.5	3.1	11.7	7.4
Extracto etéreo, %	4.0	1.7	4.5	3.1
Lignina, %	1.3	3.7	---	1.9
Proteína cruda, %	8.3	25.7	30.0	27.9
Almidón, %	82.7	26.2	11.5	18.9
Ácido láctico, %	---	---	11.6	5.8
pH	---	---	3.6	1.8
Energía bruta, cal/g	4422	4573	4007	4290

Cuadro 9. Efecto de las enzimas CH para PNA sobre el porcentaje de digestibilidad *in vitro* de la MS, FDN y EB de la HGM (Exp. 1)

CH	T % LM	% Digestibilidad MS	% Digestibilidad FDN*	% Digestibilidad EB*
		Sin	0	61.2±0.9 ^a
Con	0	85.0±0.9 ^b	76.0	84.0
Con	0	84.2±0.9 ^b	73.0	84.0

^{a,b} Valores con distintas letras son diferentes (**P<0.001**)

*Digestibilidad calculada

Cuadro 10. Promedio de digestibilidad *in vitro* de MS del LM (Exp. 2)

Ingrediente	% Digestibilidad <i>in vitro</i>	
	LM	99.12
LM	99.16	
LM	99.13	
LM	99.44	
LM	99.17	
LM	99.19	
LM	99.28	
LM	99.20	
LM	98.94	
Promedio	99.19±0.4	

Cuadro 11. Efecto de la inclusión del LM al 0, 10 y 20%, con y sin enzimas CH para PNA sobre la digestibilidad de la MS, FDN y EB de la HGM (Exp. 3)

LM	CH		Promedio
	Sin % Digestibilidad MS	Con	
0 % LM	68.26	86.34	77.30±3.3 ^a
10% LM	67.68	86.34	77.01±3.3 ^a
20% LM	66.13	88.06	77.10±3.3 ^a
Promedio	67.36±2.7 ^a	86.91±2.7 ^b	
% Digestibilidad FDN*			
0 % LM	60.00	80.00	70.00
10% LM	66.00	81.00	73.50
20% LM	61.00	80.50	70.70
Promedio	62.33	80.50	
% Digestibilidad EB*			
0 % LM	67.00	86.00	76.50
10% LM	70.00	86.00	78.00
20% LM	72.00	89.00	80.50
Promedio	69.67	87.00	

^{a,b} Valores con distintas letras son diferentes (**P<0.001**)

*Digestibilidad calculada

Cuadro 12. Efecto del LM fermentado 12 y 24 horas con enzimas CH para PNA sobre la digestibilidad *in vitro* de la MS y FDN de la HGM (Exp. 4)

LM	Con CH		Promedio
	12 horas	24 horas	
	% Digestibilidad MS		
0 % LM	80.18	80.18	80.18±1.3 ^a
10% LM	78.80	78.08	78.44±0.9 ^a
20% LM	80.52	79.07	79.80±0.9 ^a
Promedio	79.83±0.9 ^a	79.11±0.9 ^a	
	% Digestibilidad FDN*		
0 % LM	76.00	76.00	76.00
10% LM	76.00	76.00	76.00
20% LM	78.00	69.00	73.50
Promedio	76.67	73.67	

^a Valores con la misma letra no son diferentes (**P>0.05**)

*Digestibilidad calculada

Cuadro 13. Efecto de la utilización de LM natural y LM fermentado a 24 horas con y sin enzimas CH para PNA sobre la digestibilidad *in vitro* de la MS y FDN de la HGM (Exp. 5)

LM	% Digestibilidad MS				Promedio
	0 horas de reposo ¹		24 horas de reposo ¹		
	Sin CH	Con CH	Sin CH	Con CH	
0 % LM	53.18	81.59	54.21	80.46	67.36±0.3 ^a
20% LM	54.48	80.07	55.44	81.98	67.99±0.3 ^a
Promedio	53.83±0.3 ^a	80.83±0.3 ^b	54.83±0.3 ^a	81.22±0.3 ^b	
% Digestibilidad FDN*					
0 % LM	45.00	73.00	45.00	72.00	58.75
20% LM	47.00	73.00	46.00	75.00	60.25
Promedio	46.00	73.00	45.50	73.50	

^{a,b} Valores con distintas letras son diferentes (**P<0.001**)

¹Fermentacion a 0 vs 24 horas no son diferentes (**P>0.05**)

*Digestibilidad calculada

Experimento *in vivo* con pollos de engorda

Parámetros productivos

Cuadro 14. Resultados de los efectos principales en el consumo de alimento en gramos en pollos de engorda durante la fase 1, 2 y 3 de alimentación.

Consumo de alimento (g)				
FASE 1 de 6 a 13 días de edad				
Enzimas CH	0% LM	LM natural	LM fermentado	Promedio
Sin	260	260	261	261±3 ^a
Con	249	257	257	254±3 ^a
Promedio	255±4 ^a	259±4 ^a	259±4 ^a	
FASE 2 de 14 a 28 días de edad				
Sin	1258	1291	1270	1273±9 ^a
Con	1250	1260	1264	1258±9 ^a
Promedio	1254±11 ^a	1275±11 ^a	1267±11 ^a	
FASE 3 de 29 a 50 días de edad				
Sin	3643	3842	3667	3717±38 ^a
Con	3546	3858	3797	3734±39 ^a
Promedio	3595±47 ^a	3850±47 ^b	3732±48 ^b	
RESUMEN DE FASES de 6 a 50 días de edad				
Sin	5161	5394	5198	5251±62 ^a
Con	5045	5392	5342	5260±62 ^a
Promedio	5103±53 ^a	5393±53 ^b	5270±55 ^b	

^{a,b} Valores con distintas letras son diferentes (**P<0.05**)

Cuadro 15. Resultados de los efectos principales en la ganancia de peso en gramos en pollos de engorda durante la fase 1, 2 y 3 de alimentación.

Ganancia de peso (g)				
FASE 1				
de 6 a 13 días de edad				
Enzimas CH	0% LM ²	LM natural	LM fermentado	Promedio
Sin	193	192	195	193±2 ^a
Con	189	192	194	191±2 ^a
Promedio	191±3 ^a	192±3 ^a	194±3 ^a	
FASE 2				
de 14 a 28 días de edad				
Sin	882	881	869	877±6 ^a
Con	867	864	872	868±6 ^a
Promedio	874±7 ^a	872±8 ^a	871±7 ^a	
FASE 3				
de 29 a 50 días de edad				
Sin	1702	1845	1723	1756±21 ^a
Con	1688	1839	1786	1771±22 ^a
Promedio	1695±26 ^a	1842±26 ^b	1754±27 ^a	
RESUMEN DE FASES				
de 6 a 50 días de edad				
Sin	2776	2917	2787	2827±35 ^a
Con	2744	2904	2856	2835±35 ^a
Promedio	2760±30 ^a	2911±30 ^b	2821±31 ^{a,b}	

^{a,b} Valores con distintas letras son diferentes (**P<0.05**)

Cuadro 16. Resultados de los efectos principales en la conversión alimenticia en gramos por gramos en pollos de engorda durante la fase 1, 2 y 3 de alimentación.

Conversión alimenticia (g/g)				
FASE 1		de 6 a 13 días de edad		
Enzimas CH	0% LM ²	LM natural	LM fermentado	Promedio
Sin	1.35	1.36	1.34	1.35±0.11 ^a
Con	1.31	1.34	1.33	1.33±0.11 ^a
Promedio	1.33±0.01 ^a	1.35±0.01 ^a	1.33±0.01 ^a	
FASE 2		de 14 a 28 días de edad		
Sin	1.43	1.47	1.46	1.44±0.006 ^a
Con	1.44	1.46	1.45	1.44±0.006 ^a
Promedio	1.43±0.007 ^a	1.46±0.007 ^b	1.46±0.007 ^b	
FASE 3		de 29 a 50 días de edad		
Sin	2.15	2.09	2.13	2.12±0.016 ^a
Con	2.10	2.10	2.13	2.11±0.016 ^a
Promedio	2.13±0.019 ^a	2.10±0.019 ^a	2.13±0.020 ^a	
RESUMEN DE FASES		de 6 a 50 días de edad		
Sin	1.86	1.85	1.87	1.86±0.01 ^a
Con	1.84	1.86	1.87	1.86±0.01 ^a
Promedio	1.85±0.01 ^a	1.85±0.01 ^a	1.87±0.01 ^a	

^a Significa valores no son diferentes (**P>0.05**)

REFERENCIAS

1. Adeola O, Cowieson AJ. Board-invited review: Opportunities and challenges in using exogenous enzymes to improve nonruminant animal production. *J Animal Science*, 2011; 89: 3189-3218.
2. Albuquerque CS, Rabello CBV, Santos MJB, Lima MB, Silva EP, Lima TS, Ventura DP, Dutra Jr WM. Chemical composition and metabolizable energy values of corn germ meal obtained by wet milling for layers. *Brazilian Journal of Poultry Science*, 2014; 16: 107-112.
3. Angel R, Sorbara JOB. Why is it important to understand substrates if we are to optimize exogenous enzyme efficacy? *Poultry Science*, 2014; 93: 2375-2379.
4. Ángeles SC, Cortez JM. Manual de ingredientes de utilidad en alimentación animal. Características microscópicas. Manual FMVZ. Ciudad de México: UNAM, 2009.
5. Archer Daniels Midland Company. Feed & Fet Food. Ingredients Catalog. Decatur, IL, 2016.
6. Björck I, Liljeberg H, Ostman E. Low glycaemic-index foods. *British Journal of Nutrition*, 2000; 83: 149-155.
7. Boisen S, Fernández JA. Prediction of the total tract digestibility of energy in feedstuffs and pig diets by in vitro analyses. *Animal Feed Science and Technology*, 1997; 68: 277-286.
8. Choct, M. Enzyme for the feed industry: Past, present and future. *World's Poultry Science Journal*, 2006; 62: 5–16.
9. Cuca GM, Ávila GE, Pro MA. Alimentación de las Aves. México, México. 2ª Edición. Universidad Autónoma Chapingo, 2009.
10. Davis KS. (2001). Corn milling, processing and generation of co-products . Minnesota Corn Grower Association. Technical Symposium. September 11, 2001.
11. Donohue M, Cunningham DL. Effects of grain and oilseed prices on the costs of US poultry production. *The Journal of Applied Poultry Research*, 2009; 18: 325-337.
12. Godoy MRC, Bauer LL, Parsons CM, Fahey GC. Select corn coproducts from the ethanol industry and their potential as ingredients in pet foods. *Journal of Animal Science*, 2008; 87: 189-199.
13. Izydorczyk MS, Biliaderis CG. Cereal arabinoxylans: Advances in structure and physicochemical properties. *Carbohydrate Polymers*, 1995; 28: 33-48.
14. Izydorczyk MS, Dexter JE. Barley β -glucans and arabinoxylans: Molecular structure, physicochemical properties, and uses in food products—A review. *Food Research International*, 2008; 41: 850–868.

15. Jaworski NW, Lærke HN, Knudsen BKE, Stein HH. Carbohydrate composition and in vitro digestibility of dry matter and nonstarch polysaccharides in corn, sorghum, and wheat and coproducts from these grains. *Journal of Animal Science*, 2015; 93: 1103-1113.
16. Jones CK, Frantz EL, Bingham AC, Bergstrom JR, DeRouchey JM, Patience JF. Effects of drought-affected corn and nonstarch polysaccharide enzyme inclusion on nursery pig growth performance. *Journal of Animal Science*, 2015; 93: 1703-1709.
17. Kaczmarek SA, Rogiewicz A, Mogielnicka M, Rutkowski A, Jones RO, Slominski BA. The effect of protease, amylase, and nonstarch polysaccharide-degrading enzyme supplementation on nutrient utilization and growth performance of broiler chickens fed corn-soybean meal-based diets. *Poultry Science*, 2014; 93: 1745–1753.
18. Kaczmarek SA, Rogiewicz A, Mogielnicka M, Rutkowski A, Jones RO, Slominski BA. The effect of protease, amylase, and nonstarch polysaccharide-degrading enzyme supplementation on nutrient utilization and growth performance of broiler chickens fed corn-soybean meal-based diets. *Poultry Science*, 2014; 93: 1745–1753.
19. Knudsen, K. Fiber and nonstarch polysaccharide content and variation in common crops used in broiler diets. *Poultry Science*, 2014; 93: 2380-2393.
20. Lusby KS, Armbruster SL, Dvorak MJ. Condensed molasses soluble and corn steep liquor as protein supplements for range cow. *Animal Science*, 1981; 57: 40-46.
21. Malathi V, Devegowda G. In vitro evaluation of nonstarch polysaccharide digestibility of feed ingredients by enzymes. *Poultry Science*, 2001; 80: 302–305.
22. McDonald P, Edwards RA, Greenhalgh JFD, Morgan CA, Sinclair LA, Wilkinson RG. (2013). *Nutrición Animal*. 7ª Edición. Editorial ACRIBIA, S.A., 2013.
23. McNab JM, Smithard RR. Barley β -glucan: An antinutritional factor in poultry feeding. *Nutrition Research Reviews*, 1992; 5: 45–60.
24. Meried WG. Evaluation of swine liquid feed system with corn ethanol co-products. Thesis submitted to the faculty of the graduate school. University of Minnesota, 2014.
25. Milošević N, Stanačev V, Nikolova N, Pavlovski Z. Corn meal in broiler chicken nutrition. *Macedonian Journal of Animal Science*, 2011; 1: 107-111.
26. Mirzaie S, Zaghari M, Aminzadeh S, Shivazad M. The effects of non-starch polysaccharides content of wheat and xylanase supplementation on the intestinal amylase, aminopeptidase and lipase activities, ileal viscosity and fat digestibility in layer diet. *Iranian Journal of Biotechnology*, 2011; 10: 208-214.

27. Murphy TC, McCracken JK, McCann ME, George J, Bedford MR. Broiler performance and in vivo viscosity as influenced by a range of xylanases, varying in ability to effect wheat in vitro viscosity. *British Poultry Science*, 2009; 50: 716–724.
28. National Research Council. *Nutrient Requirements of Poultry*. 9th Edition. Washington, D.C., USA: National Academy Press, 1994.
29. Nelson DL, Cox MM. *Lehninger principles of biochemistry*. New York, NY. 5th ed. Freeman and Company, 2008.
30. Noblet J, Peyraud YJ. Prediction of digestibility of organic matter and energy in the growing pig from an in vitro method. *Animal Feed Science and Technology*, 2007; 134: 211-222.
31. O'Sullivan AC. Cellulose: The structure slowly unravels. *Cellulose*, 1997; 4: 173-207.
32. O'Neill HV, Mathis G, Lumpkins BS, Bedford MR. The effect of reduced calorie diets, with and without fat, and the use of xylanase on performance characteristics of broilers between 0 and 42 days. *Poultry Science*, 2012; 91: 1356–1360.
33. Rochell SJ, Kerr BJ, Dozier WA 3rd. Energy determination of corn co-products fed to broiler chicks from 15 to 24 days of age, and use of composition analysis to predict nitrogen-corrected apparent metabolizable energy. *Poultry Science*, 2011; 90: 1999-2007.
34. Rojas OJ, Liu Y, Stein HH. Phosphorus digestibility and concentration of digestible and metabolizable energy in corn, corn coproducts, and bakery meal fed to growing pigs. *Journal of Animal Science*, 2013; 91: 5326-5335.
35. Saulnier L, Sadoa PE, Branlardb G, Charmetb G, Guillona F. Wheat arabinoxylans: Exploiting variation in amount and composition to develop enhanced varieties. *Journal of Cereal Science*, 2007; 46: 261-281.
36. Shurson J. *What We Know About Feeding Liquid By-Products to Pigs*. Department of Animal Science. University of Minnesota, 2009
37. Singh Y, Ravindran V, Wester TJ, Molan AL, Ravindran G. Influence of feeding coarse corn on performance, nutrient utilization, digestive tract measurements, carcass characteristics, and cecal microflora counts of broilers. *Poultry Science Association Inc.*, 2014; 93: 607-616.
38. Sklan D, Noy Y. Hydrolysis and absorption in the small intestine of posthatch chicks. *Poultry Science*, 2000; 79: 1306–1310.
39. Smits CHM, Annison G. Nonstarch plant polysaccharides in broiler nutrition- towards a physiologically valid approach to their determination. *World's Poultry Science Journal*, 1996; 52: 203–221.
40. Steinfeldt S. The dietary effect of different wheat cultivars for broiler chickens. *British Poultry Science*, 2001; 42: 595–609.

41. Svihus B, Uhlenb AK, Harstadc OM. Effect of starch granule structure, associated components and processing on nutritive value of cereal starch: A review. *Animal Feed Science and Technology*, 2005; 122: 303–320.
42. Svihus B. Limitations to wheat starch digestion in growing broiler chickens: A brief review. *Poultry Science*, 2011; 51: 583–589.
43. Svihus, B. Starch digestion capacity of poultry. *Poultry Science*, 2014; 93: 2394–2399.
44. Tekchandani HK, Dias FF, Mehta D. Maize wet milling co-products as feed aditives: Perspective and opportunities. *Journal of Scientific & Industrial Research*, 1999; 58: 83-88.
45. Theander O, Westerlund E, Åman P, 2, Graham H. Plant cell walls and monogastric diets. *Animal Feed Science and Technology*, 1989; 23: 205–225.
46. Thomas DV, Ravindran V, Ravindran G. Nutrient digestibility and energy utilization of diets based on wheat, sorghum or maize by the newly hatched broiler chick. *British Poultry Science*, 2008; 49: 429–435.
47. Tolman R, Tumbleson G. Raising American Standards World of Corn Natl. Corn Growers. 2006 (citado Abril, 2016). Disponible en: <http://www.ncga.com/WorldOfCorn/main/environmental.asp>
48. Vincken JP, Schols HA, Oomen RJ, McCann MC, Ulvskov P, Voragen AG, Visser RG. If homogalacturonan were a side chain of rhamnogalacturonan I. Implications for cell wall architecture. *Plant Physiology*, 2003; 132: 1781–1789.
49. Xiao X, Hou Y, Du J, Liu Y, Liu Y, Dong L, Liang Q, Wang Y, Bai G, Luo G. (2012). Determination of Main Categories of Components in Corn Steep Liquor by Near-Infrared Spectroscopy and Partial Least-Squares Regression. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 7830-7835.
50. Zhang G, Ao Z, Hamaker BR. Slow digestion property of native cereal starches. *Biomacromolecules*, 2006; 7: 3252–3258.
51. Zhang, L., Xu, J., Lei, L., Jiang, Y., Gao, F. and Zhou GH. Effects of Xylanase Supplementation on Growth Performance, Nutrient Digestibility and Non-starch Polysaccharide Degradation in Different Sections of the Gastrointestinal Tract of Broilers Fed Wheat-based Diets. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, 2014; 27: 855-861.