

11674



**UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTONOMA DE MEXICO**

**MAESTRIA EN CIENCIAS DE LA PRODUCCION Y DE LA SALUD
ANIMAL**

EFFECTO DEL TRATAMIENTO DE GRANOS DE CEREAL CON
SEBO SAPONIFICADO CON SALES DE CALCIO Y
FORMALDEHIDO SOBRE LA DEGRADACION RUMINAL,
EL FLUJO DE ALMIDON A DUODENO Y LA
CONCENTRACION DE GLUCOSA SANGUINEA EN
OVINOS.

T E S I S
QUE PARA OBTENER EL GRADO DE
MAESTRO EN CIENCIAS
P R E S E N T A
MARTIN RAMIREZ SANCHEZ

COMITE TUTORAL: PhD. GERMAN D. MENDOZA MARTINEZ
PhD. EVERERDO GONZALEZ PADILLA
PhD. HECTOR R. VERA AVILA

MEXICO, D. F.

2004



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.

DEDICATORIA

A mis padres:

Gonzalo Ramírez Cuevas y Rita Sánchez Ruiz, por todo el apoyo, tolerancia y comprensión incondicional que me han brindado durante toda mi vida para poder realizar mis aspiraciones.

A mis Hermanos: Gonzalo, Ángela y Sara, por su ejemplo ante la vida.

Al Dr. Juan López, quien se convirtió en mi tirano brindándome su apoyo, ejemplo y amistad.

A la M.V.Z. Xóchitl Pastrana Martínez, quien es parte integral de todo este proyecto y aun mas.

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Nacional Autónoma de México a todos los profesores quienes comparten su conocimiento logrando inculcar un fervor por la ciencia en la producción animal, a mis asesores Germán Mendoza, Everardo González y Héctor Vera por su apoyo y orientación, a las instituciones INIFAP (CENID Microbiología, Palo alto México D.F. y CENID Fisiología, Ajuchitlán, Colon, Querétaro) y al Programa de Ganadería del Colegio de Postgraduados (Montecillo, Estado de México), a la Dra. Maria Esther Ortega, al Dr. Alejandro Villa, así como a toda los personas que con su invaluable ayuda, experiencia y amistad hicieron posible la elaboración de este trabajo, al CONACYT por que gracias a el apoyo económico es posible la formación de gente y la elaboración de proyectos como este.

Gracias.

CONTENIDO	Pgs.
Resumen.....	1
1- Introducción.....	3
1.1- Estructura del grano de cereal.....	3
1.2- Almidón.....	4
1.3- Degradación microbial del almidón.....	5
1.4- Factores que afectan la degradabilidad ruminal del almidón.....	9
1.5- El uso de grasa.....	13
1.6- Degradación ruminal de los lípidos.....	14
1.7- Utilización de jabones de calcio.....	14
1.8- Digestión del almidón en el intestino delgado de los rumiantes.....	16
1.9- Adsorción intestinal de la glucosa.....	18
2- Justificación.....	20
3- Hipótesis.....	21
4- Experimento 1. Efecto del tratamiento de granos de cereal con sebo saponificado con sales de calcio y formaldehído sobre la degradabilidad ruminal (<i>in vitro</i>) de la materia seca.....	22
4.1- Materiales y métodos.....	22
4.2- Resultados.....	25
4.3- Discusión.....	32
4.4- Conclusión.....	35
5- Experimento 2. Efecto sobre la degradabilidad ruminal <i>in vitro</i> de dos variedades de trigo tratados con una cubierta de sebo saponificado con sales de calcio y formaldehído.....	36

5.1- Materiales y métodos.....	36
5.2- Resultados.....	37
5.3- Discusión.....	40
5.4- Conclusión.....	42
6- Experimento 3. Degradabilidad ruminal <i>in situ</i> de trigo tratado con sebo saponificado con sales de calcio y formaldehído.....	43
6.1- Materiales y métodos.....	43
6.2- Resultados.....	45
6.3- Discusión.....	47
6.4- Conclusión.....	49
7- Experimento 4. Efecto de la inclusión en la dieta de ovinos de trigo rolado cubierto con sebo saponificado y formaldehído sobre el flujo de almidón a duodeno.....	50
7.1- Materiales y métodos.....	50
7.2- Resultados.....	53
7.3- Discusión.....	60
7.4- Conclusión.....	65
8- Literatura citada.....	66

Resumen

Con el objetivo de determinar el nivel de protección de la degradabilidad ruminal, de maíz rolado, avena rolada, trigo rolado y trigo quebrado; se les aplicaron tres tratamientos, a)- de formaldehído (HCHO) (0 o 3%), b)- un recubrimiento con sebo saponificado con sales de calcio (SSCa) en cantidades de (0,10,15,20 y 25%) y c) un recubrimiento con el SSCa y HCHO se determinó la digestibilidad *in vitro* de estos incubando las muestras por 12, 24 y 48 h. Los resultados muestran un efecto por el HCHO el cual disminuyó la degradabilidad a las 12 y 48 h ($P < 0.05$). El SSCa solo en los niveles de 15 y 20% mostró diferencias ($P < 0.05$). En la interacción producto x HCHO x SSCa ($P < 0.05$) el trigo rolado redujo su degradación en un 33.8% a 12 h y 17.2% a 48 h. En base a esta información se decidió continuar con trigos tratados con un 15 y 20% de SSCa y HCHO. En un segundo experimento se determinó la degradabilidad *in vitro* de 2 variedades de trigo rolado; harinoso var. Zacatecas (TH) y cristalino var. Pavón (TC). Se usó un arreglo factorial $2 \times 3 \times 2$; los factores fueron la variedad de trigo, el SSCa (0, 15 y 20%) y el HCHO (0 o 5%); la degradabilidad ruminal de la materia seca, se evaluó utilizando digestibilidad *in vitro* a las 24 y 48 h en líquido ruminal. Se observó que el tratamiento reduce hasta 30% la digestibilidad de materia seca del TH y 10% la del TC en líquido ruminal. Estas dos variedades de trigo también se evaluaron por medio de digestibilidad *in situ* para lo cual se usaron 4 borregos fistulados en rumen a los que se alimentó con una ración de 70% de trigo y 30% paja de avena, se determinó la degradabilidad de la MS y almidón a las 4, 8, 12 y 24 h encontrando una disminución de la degradabilidad de la MS a las 24 h de 5.7% para TC y de 6.7% para TH, cuando fueron tratados con

el SSCa y HCHO. En cuanto al almidón se encontraron diferencias ($P < 0.05$) por variedad de trigo hasta las 12 h y no por efecto de tratamiento. Se realizó un tercer experimento en el que se usaron ovinos fistulados en duodeno para medir la cantidad de almidón que llegaba al intestino delgado, se tuvieron 10 borregos machos Suffolk Rambollet (30 ± 0.415 kg PV) con cánulas duodenales. Asignándose al azar a uno de los siguientes tratamientos: Salvado de trigo (testigo), trigo harinoso (TH), TH tratado (THT), trigo cristalino TC, y TC tratado (TCT) el tratamiento fue igual a los anteriores (HCHO 3% y 15% de SSCa) ofrecidos estos como el 22.8% de la ración diaria y completándose con 53.2% de paja de avena, 22.8% de heno de alfalfa y 1.2% de sales minerales. Se tomaron muestras postprandiales del flujo duodenal cada 2 h por un periodo de 24 h encontrando diferencias ($P < 0.05$) en la concentración de almidón en duodeno a partir de las 2 h posteriores al consumo de los trigos y hasta las 14 h con respecto al testigo. Se encontraron diferencias entre tratamientos ($P < 0.05$) a las 2 h para el TH con un mayor flujo de almidón a intestino. Siguiendo el mismo método del trabajo anterior pero usando animales sin canular y tomando muestras de sangre obtenidas de vena yugular se determinó glucosa e insulina sanguínea las cuales no mostraron diferencias ($P < 0.05$). Se concluye que a pesar de que en pruebas *in vitro* el uso de SSCa y HCHO reduce la degradabilidad ruminal del trigo, el uso de estos en dietas para ovinos no modifica el flujo de almidón a duodeno ni la concentración de glucosa e insulina sanguínea.

1- Introducción

La principal fuente de almidón en las dietas de rumiantes son los granos de cereales de los cuales los más comúnmente utilizados son cebada, trigo, maíz, avena y sorgo (Brent Theuerer; 1986), constituyendo la principal porción de los concentrados. El almidón representa típicamente el 70% de la materia seca de los granos, por lo que es el principal componente energético de la dieta (Harmon, 1998).

1.1- Estructura del grano de cereal

El grano es botánicamente un fruto en cariósipide que solo contiene una semilla. En estas semillas la cubierta exterior está constituida fundamentalmente, por el pericarpio y el tegmen o testa. El pericarpio comprende a su vez, diversos tejidos (epicarpio, mesocarpio, capa de células transversales, entre otros) más o menos diferenciados según el cereal. El pericarpio es rico en celulosa y el tegmen está constituido, básicamente por una capa continua de sustancia lipídica, en la cual se encuentran los pigmentos que dan al grano su color característico. En el tegmen o testa del grano maduro solo se diferencia fácilmente una capa de células. subyacente a este se encuentra la capa de aleurona, la cual consta de uno o varios estratos de células de parénquima, de forma cuadrangular o rectangular y con paredes delgadas. Estas células contienen un número abundante de glóbulos de proteína y grasa. El endospermo está constituido por células de parénquima, de paredes delgadas, dispuestas en sentido radial, repletas de gránulos de almidón, las células de las capas más externas del

endospermo son ricas en gránulos protéicos. Otra parte importante del grano es el embrión o germen localizado en un extremo del grano, adosado a la cara ventral, siendo una estructura compleja, formada por el escutelo (tejido de reserva), el coleoptilo, la coleorriza, el epiblasto, la radícula, la plúmula y el hipocotilo todos estos tejidos son ricos en proteína y lípidos, con una pequeña porción de almidón (Yufera y Carrasco, 1980; Robles, 1990; Espinosa y Mark, 1998)

1.2- Almidón

El almidón es un polímero de glucosa con una proporción de átomos de C, H y O de 6:10:5 y se presenta en granos en los amiloplastos, pudiendo liberarse de la envoltura del amiloplasto en la madurez de la semilla, como en el endospermo amiláceo. La forma y tamaño de los gránulos de almidón pueden variar mucho, aún en la misma semilla (Espinosa y Mark; 1998), los gránulos de almidón son pseudo cristales y poseen zonas organizadas (cristalinas) y no organizadas (amorfas), la región cristalina es compuesta principalmente por amilopectina, mientras que la amorfa es rica en amilosa, estas dos tipos de moléculas son los componentes del almidón (Rooney y Pflugfelder, 1986). De las moléculas que forman el almidón la α -amilosa está constituida por cadenas largas no ramificadas, en las que todas las unidades de D-glucosa se hallan unidas mediante enlaces α (1 - 4) . las cadenas son polidispersas y varían en peso molecular desde unos millares hasta 500 000 daltons. La amilosa no es soluble en el agua, pero forma micelas hidratadas que dan un color azul con el yodo. La amilopectina está muy ramificada, la longitud media de las ramificaciones es de 24

a 30 residuos de glucosa, según las especies. Los enlaces glucosídicos del esqueleto son α (1 – 4), pero los de los puntos de ramificación son enlaces α (1 – 6). La amilopectina produce disoluciones coloidales o micelares que dan una coloración rojo violáceo con el yodo. Su peso molecular puede llegar hasta 100 millones (Lehninger, 1995).

1.3- Degradación microbial del almidón:

La mayor parte del almidón es degradado en el rumen por microorganismos tales como *Prevotella ruminicola*, *Succinomonas amylolytica*, *Ruminobacter amylophilus*, *Streptococcus bovis* así como protozoarios y hongos. Durante la degradación microbial del almidón se obtienen diversas cantidades de glucosa, maltosa (disacárido 0- α -d-glucopiranosil- (1 – 4)- α -d-glucopiranososa), maltotriosa (3 glucosas), maltotetraosa (4 glucosas), maltopentosa (5 glucosas), maltohexaosa (6 glucosas), maltoheptosa (7 glucosas y α dextrinas que son oligosacáridos ramificados que contienen de uno a tres enlaces 1 – 6, uno o más enlaces adyacentes (1 – 4)- α -d y una mezcla heterogénea con grados de polimerización de 4 a mayor de 10 glucosas. Esto se realiza por acción de exo y endoamilasas producidas por dichas bacterias; así la alfa amilasa es una endohidrolasa y actúa predominantemente con enlaces glucosídicos α (1,4), ligados en oligosacáridos y polisacáridos y que produce oligosacáridos de bajo peso molecular. La glucoamilasa es una exohidrolasa que ataca principalmente enlaces α (1,4) en el grupo no reductor al final del almidón y en el grupo no reductor de los fragmentos de almidón producidos por la hidrólisis de la amilasa.

La glucoamilasa también puede romper enlaces α (1,6) en forma limitada. La enzima alfa amilasa hidroliza en forma aleatoria mientras que la beta amilasa hidroliza en forma escalonada en enlaces alternos, liberando maltosa de las moléculas lineales. (Mendoza y Ricalde, 1993).

Las enzimas desramificantes como la pululanasa producida por *Prevotella ruminicola* hidrolizan enlaces glucosídicos (1,6) entre las cadenas de la amilopectina (Mendoza y Ricalde, 1993).

Varias especies de protozoarios ruminales son capaces de hidrolizar almidón pues poseen alfa amilasa dentro de estos es *Entodimodium caudatum* presenta la mayor actividad (Coleman, 1986).

La fermentación de la glucosa y de otros monosacáridos tiene lugar principalmente mediante el ciclo de Embden-Meyerhof. La conversión de hexosa en dos moles de piruvato proporciona dos adenosín trifosfatos (ATP) y dos nicotinamida adenina dinucleótidos reducidos (NADH_2). El ATP generado es la principal fuente de energía para el crecimiento y mantenimiento de las bacterias (Church, 1988)

El piruvato es el compuesto intermedio a través del cual deben pasar todos los carbohidratos antes de ser transformados en ácidos grasos volátiles (AGV), CO_2 y CH_4 . La conversión de piruvato en acetato por las bacterias del rumen depende de dos mecanismos. El ciclo más común para la producción de acetato es mediante el sistema piruvato-formato liasa que da origen a la formación de formato y acetil-Coenzima A (CoA) como productos intermedios. El formato es convertido posteriormente en CO_2 y H_2 por otras bacterias del rumen. La segunda

vía es la piruvato-ferredoxina oxidorreductasa que da origen a ferredoxina reducida, CO_2 y acetil-CoA. Esta vía ha sido observada en *Clostridia*, *Megasphaera eldsdenii* y *Veilonella alcalisens*. El acetil-CoA es transformado en acetato más ATP mediante fosfotransacetilasa y acetoquinasa (Church, 1988).

El propionato es producido a partir del piruvato principalmente mediante el ciclo del ácido dicarboxílico. Son tres las enzimas que catalizan la conversión de piruvato en propionato : 1) fosfoenolpiruvato (PEP) carboxiquinasa, que convierte PEP más adenín difosfato (ADP), o guanidina difosfato (GDP) más CO_2 en oxaloacetato (OAA) + ATP o guanidina trifosfato (GTP); 2) piruvato carboxilasa, que convierte piruvato más CO_2 más ATP en OAA más ADP; y 3) metilmalonil-CoA carboxitransferasa, que se necesita para transformar el succinato en propionato a través del compuesto intermedio, metilmalonil-CoA. En *M. eldsdenii* y *B. ruminicola* se ha identificado una segunda vía para la producción de propionato. El ciclo del acrilato. En este ciclo, el piruvato es convertido en lactato que se transforma en acrilil-CoA y posteriormente se reduce hasta propionil-CoA. La proporción del propionato total producido mediante el ciclo del acrilato puede representar un tercio de la producción total (Church, 1988).

Han sido descritas dos vías para la síntesis de butirato y ácidos grasos superiores. La vía más común para la síntesis de butirato es la inversa de la β -oxidación. En la otra vía, malonil-CoA se combina con acetil-CoA, que posteriormente es reducido hasta butirato mediante la vía crotonil-CoA. En general, el butirato es sintetizado principalmente mediante β -oxidación inversa y los ácidos grasos superiores son sintetizados vía malonil-CoA (Church, 1988).

Producción de metano: La energía metabólica para las bacterias es liberada mediante la fosforilación del sustrato en dos reacciones. La primera etapa consiste en la deshidrogenación de gliceraldehído-3-fosfato ligada a nicotinamida adenina dinucleótido (NAD). En segundo lugar, las reacciones piruvato liasa producen acetil-CoA que es convertido en acetato y ATP. En la primera reacción, los electrones son transferidos a ferredoxina, flavodoxina o compuestos relacionados y posteriormente, a protones (H^+) o H y CO_2 , obteniendo formato ($HCOOH$). El formato es convertido activamente en CH_4 mediante el contenido del rumen: $4 HCOOH \rightarrow 3 CO_2 + CH_4$. Para obtener el máximo rendimiento de energía mediante la fermentación anaerobia de carbohidratos, se precisa un sumidero de electrones para la regeneración de NAD^+ sin intervenir piruvato ni acetil-CoA. La formación de metano será considerada como un sumidero de energía en el que se drena el H procedente de todos los microorganismos del rumen, permitiendo un mayor rendimiento total de ATP. Existen en el rumen otros sumideros de H . Por ejemplo la conversión de NO_3 en NH_3 , de SO_4 en H_2S y la saturación de ácidos grasos insaturados. La cantidad de metano está relacionada con los productos finales de la fermentación de los carbohidratos, el CO_2 y H son subproductos de la conversión de la glucosa en acetato y butirato. Cuando se utiliza tanto la vía del succinato como del acrilato para la síntesis de propionato, todos los átomos de C y de H presentes en la glucosa aparecen en las dos moléculas producidas de propionato. (Church, 1988).

1.4- Factores que afectan la degradabilidad ruminal del almidón

La digestión ruminal del almidón es el resultado de la tasa de digestión y la tasa de pasaje, los factores que modifiquen la tasa de digestión y/o la tasa de pasaje, afectarán la extensión de la digestión del almidón y como consecuencia la cantidad de pasaje al intestino delgado. El consumo de almidón, la variedad de grano o su procesamiento, el nivel de amonio en rumen, el forraje ofrecido al animal y las interacciones entre estos van a modificar la digestión de el almidón en rumen (Mendoza y Ricalde, 1993). La digestión ruminal puede ser descrita matemáticamente considerando varios componentes que para el caso del almidón los más importantes son la tasa de digestión, la extensión de la digestión y la tasa de pasaje; si se considera que la estructura del almidón es compleja es posible que se puedan utilizar distintos modelos para describir su tasa de digestión, al comparar los modelos de cinética de primer orden, cinética de primer orden con fase de retraso y con fracción indigestible y el de cinética de saturación Mendoza *et al.* (2000) encontraron que en general los modelos investigados permiten detectar las diferencias en la tasa de digestión del almidón. El modelo de cinética de saturación estimó algunos parámetros sin significado biológico. La inclusión de la fase de retraso o la fracción indigestible presentaron las mayores desviaciones, concluyendo que el modelo de cinética de primer orden es el más adecuado para describir la digestión ruminal del almidón.

La composición del grano puede variar con la variedad del mismo, con las condiciones del medio ambiente y cosecha, además, por el secado el método y tiempo de almacenamiento (Owens *et al.* 1997). La estructura y composición de los almidones en el cereal y las interacciones con la proteína juegan un papel

importante en la digestibilidad y el valor alimenticio de los granos, así la digestibilidad del almidón es afectada por la composición y la forma física, las interacciones proteína-almidón, las unidades contenedoras de almidón, factores antinutricionales y la forma física del alimento o material de alimento, siendo la digestibilidad del almidón generalmente inversamente proporcional al contenido de amilosa (Rooney y Pflugfelder, 1986). McAllister *et al.* (1990a) con el uso de microscopio electrónico demostraron que la digestión microbiana del grano depende de la accesibilidad al endospermo por los microorganismos del rumen. En 1976 (Nordin y Campling) demostraron que los granos de cereal enteros son virtualmente indigestibles en el rumen. McAllister *et al.* (1990a) usando cebada, maíz, sorgo y trigo determinaron la digestibilidad y la colonización al usar los granos enteros, partidos por la mitad y partidos en cuartos, encontraron que la colonización para los granos partidos por la mitad o en cuartos se realizó en las primeras 2 h mientras que para los granos enteros la colonización fue restringida a las áreas fracturadas, lo cual muestra que la fractura del pericarpio es necesaria para el acceso a los gránulos de almidón.

En otro trabajo McAllister *et al.* (1993) estudiaron el efecto de la matriz proteínica de granos de cebada y maíz usando partículas pequeñas y grandes, encontraron mayor degradabilidad para las partículas pequeñas en ambos cereales, indicando que es la matriz proteínica es el principal factor responsable en las diferencias de digestión entre el maíz y la cebada.

El procesamiento de los granos puede cambiar sustancialmente su valor nutritivo un ejemplo es la cebada entera es 16% menos digestible que al ser procesada, o el caso del trigo el cual tiene una digestibilidad de 65 – 75% en

contraste con 85 – 90% al ser procesado (Mathison, 1996). El procesamiento de los granos se realiza principalmente para obtener el mayor valor energético, dentro de los procesos están el molido, el rolado, el rolado al vapor, el hojueado, la reconstitución (en términos de humedad), micronizado, estallados, cultivo de granos con alto contenido de humedad, la adición de ácidos y la adición de enzimas amilolíticas, entre otros (Brent Theuerer 1986; Mendoza y Ricalde, 1993).

Los efectos del forraje en la digestión ruminal del almidón están relacionados con cambios en la rumia y en la secreción de saliva, incrementando la capacidad buffer en el rumen y reduciendo el tiempo de digestión como resultado de aumentar la tasa de pasaje (Orskov, 1986). Por otra parte, la tasa de digestión puede ser reducida si el nitrógeno degradable en rumen es limitado (Mendoza y Ricalde, 1993), Herrera-Saldaña y Huber (1989) sugieren que la sincronización de la degradación ruminal de la energía y proteína pueden mejorar la eficiencia de la fermentación, observando una mayor eficiencia con una combinación del nitrógeno y energía rápidamente degradables en rumen.

Cualquier factor que modifique el crecimiento microbiano (nitrógeno degradable, pH, tasa de pasaje, etc.) puede alterar la digestión ruminal del almidón (Mendoza y Ricalde, 1993). Dentro de la población ruminal amilolítica destacan dos grupos de microorganismos, las bacterias y los protozoarios la, importancia de estos últimos en la digestión ruminal del almidón la demostró Coleman (1986). Los protozoarios tienen la capacidad de almacenar los gránulos de almidón reduciendo el almidón disponible para el crecimiento microbiano, la población de protozoarios ruminales puede ser incrementada en forma lineal hasta cinco o seis veces por la adición de almidón hasta un punto crítico donde las

condiciones ácidas del rumen los afectan en forma negativa. Por su parte Mendoza *et al.* (1993) al estudiar la influencia de los protozoarios sobre la digestión ruminal del almidón, utilizando para ello animales defaunados, encontraron que la digestión del almidón es menor en aquellos animales sin protozoarios reduciéndose también los gramos de almidón que llegan al intestino, se puede decir entonces que los protozoarios ruminales reducen la tasa de digestión del almidón en el rumen al cambiar la digestión del rumen al intestino delgado, lo que podría dar mayor energía disponible para el rumiante si el almidón es digerido en el intestino y si los productos finales de su digestión pueden ser absorbidos eficientemente (Mendoza y Ricalde, 1993).

Se ha observado que cuando se trata el alimento con compuestos químicos para proteger la proteína, también se protegen otros nutrimentos como el almidón (Fluharty y Loerch; 1989). Estos autores utilizaron niveles crecientes de formaldehído (0, 1, 2, y 3%) para proteger harina de maíz, observando que disminuía linealmente la degradabilidad ruminal tanto de la materia seca como del almidón, lo cual fue corroborado por McAllister *et al.* (1990b); Oke *et al.* (1991) y Aguirre. (1994); el formaldehído (HCHO) reduce la degradación ruminal de los granos de cereal al realizar enlaces cruzados entre los grupos hidroxilo del almidón y enlaces entre el almidón y la proteína, protegiendo al almidón del ataque microbiano, sin embargo al llegar al abomaso debido al pH ácido, se rompen dichos enlaces, dejando libre al almidón para que pueda ser hidrolizado por las enzimas del intestino. (Fluharty y Loerch, 1989; Ortega *et al.*, 1998).

Entre los minerales que pueden influir sobre la tasa de digestión del almidón se encuentra el calcio, debido a que es un importante cofactor de las enzimas

amilolíticas (Mendoza y Ricalde, 1993). En una revisión realizada por Huntington (1997) menciona que los jabones de Ca (grasa de sobrepaso ruminal) integrados a la dieta de los rumiantes reducen la tasa de la degradación ruminal del almidón. Por su parte Pérez-Alba *et al.* (1997), utilizando una inclusión del 10% de jabones de Ca en la dieta de ovejas lecheras observaron una disminución en la degradabilidad de la materia seca.

El concepto de protección o sobrepaso de los alimentos en la nutrición de rumiantes, se refiere a los ingredientes que se caracterizan por su capacidad de mantenerse prácticamente inalterados a su paso por el rumen-retículo y que son posteriormente hidrolizados y digeridos en el abomaso e intestino delgado. La protección se presenta en forma natural y en diferentes grados en algunos alimentos, o se produce durante los procesos industriales de obtención o transformación a que son sometidos. La protección puede conseguirse además por métodos artificiales, habitualmente tratamientos físicos o químicos, o por el recubrimiento de las partículas de alimento con materiales resistentes al ataque de la microbiota ruminal. Se entiende que un alimento está idealmente protegido cuando su degradabilidad en el rumen es mínima y su digestibilidad real es máxima (Torres, 1992).

1.5- El uso de grasa

Al incorporar grasas a la dieta de los rumiantes se incrementa la densidad energética de la misma y por ende el consumo de energía, pudiendo reemplazar parte de la energía que aportan los glúcidos de fácil fermentación, que de otra manera pudieran reducir la digestibilidad de la fibra cruda y/o causar acidosis

ruminal, una ventaja más de la adición de grasa a la dieta de rumiantes es que reducen el incremento calórico de 6-8% debido, en parte, a que los ácidos grasos no se fermentan en el rumen y con ello no se asocian al incremento calórico, como ocurre con la fermentación de almidón, celulosa y hemicelulosa (Coppock y Wilks, 1991).

1.6- Degradación ruminal de los lípidos

En el rumen los lípidos sufren dos importantes transformaciones la lipólisis y la biohidrogenación, la población microbiana del rumen como el *Anaerovibrio lipolytica* por medio de lipasas extracelulares hidroliza rápidamente los triglicéridos y galacto lípidos, liberando ácidos grasos libres (AGL) lo que permite que el glicerol y la galactosa se fermenten en AGV's. Debido a que el medio intraruminal tiene un alto poder reductor los ácidos grasos insaturados son rápidamente hidrogenados a la forma saturada, predominantemente ácido esteárico. Las bacterias y los protozoarios son también capaces de sintetizar ácidos grasos de cadenas impares a partir de propionato (C3) y ácidos grasos de cadenas ramificadas derivadas de los esqueletos de carbono de los aminoácidos. Por lo cual los lípidos que llegan al intestino delgado son tanto de origen microbiano como provenientes de la dieta (Maynard y Loosli 1981; Jenkins, 1993).

1.7- Utilización de jabones de calcio

Cuando se hierve la grasa con un álcali, como el hidróxido de sodio, se separa en glicerol y la sal alcalina del ácido graso. Estas sales alcalinas se llaman jabones y el proceso se llama saponificación (Maynard y Loosli 1981). Los ácidos

grasos en forma de jabones de Ca, incluidos en diferentes niveles, sin exceder de un 6% de la ración no alteran la digestibilidad de la materia seca, materia orgánica, fibra ácido detergente, fibra neutro detergente Ca, y Mg, a nivel de rumen (Coppoock y Wilks, 1991; Erickson, *et al.* 1992). Tampoco se observan diferencias en digestibilidad total en el tubo gastrointestinal para las fracciones de proteína cruda, aminoácidos, materia seca, nitrógeno, energía y cenizas, en dietas hasta con 85% de concentrados y 6% de jabones de Ca (Jenkins y Palmquist, 1984; Hill y West, 1991). Algunos beneficios que se tienen al emplear las grasa en forma de jabones de Ca son que con valores hasta de 10% de extracto etéreo no se afecta el consumo de materia seca (Erickson *et al.*, 1992). Los jabones de Ca no afectan la eficiencia en el crecimiento microbiano (Klusmeyer *et al.*, 1991; Ohajuruka *et al.* 1991), y el uso de estos en ganado lechero aumenta la producción de leche así como el porcentaje de grasa en la misma pero deprime el de proteína. (Jenkins; 1993; Harouna y Schingoethe., 1997). Otro efecto atribuido al uso de los jabones de Ca es el incremento en la eficiencia reproductiva, ya que las prostaglandinas $F_{2\alpha}$ se producen a partir del ácido linoleico y estas tienen un efecto luteolítico, promueven el desarrollo folicular, aceleran la involución uterina y con ello la fertilidad (Grummer *et al.*, 1991). Lo anterior lo demostraron Espinoza *et al.* (1997) al usar en las dietas de ovejas hasta un 5% de jabones de Ca encontrando un incremento en la concentración de colesterol, lipoproteínas de alta densidad, progesterona y gonadotropinas induciendo la secreción de hormona luteinizante (LH). También el uso de los jabones de calcio al combinarlos con

proteína de escape en dietas para toretes en engorda mejoró su comportamiento en el periodo de 0 a 121 días (Basurto y Garza, 1998).

1.8- Digestión del almidón en intestino delgado de los rumiantes

La fermentación del almidón en el rumen puede ser muy extensa, sin embargo esta depende de la fuente y procesamiento del grano y varía de 49 a 94% de lo que se deduce que de 6 a 51% está potencialmente disponible para digerirse en el intestino delgado. En este, la digestión enzimática depende de la secreción pancreática de la α -amilasa iniciando su hidrólisis, produciendo glucósidos de cadenas más cortas (de 2 a 5 moléculas de glucosa), que son entonces hidrolizados en la superficie de la mucosa intestinal completando el proceso por oligosacaridasas de la superficie localizadas en el borde de la membrana de los microvellos intestinales. Cabe mencionar que los rumiantes no tienen actividad de sucrasa medible y por lo tanto dependen de la actividad de la maltasa e isomaltasa para producir unidades de glucosa que está disponible para su absorción o para su metabolismo. (Harmon, 1998; Huntington, 1997). Ya que la α -amilasa es la enzima primaria en la hidrólisis del almidón un incremento en el consumo de este sugiere un incremento en la secreción de α -amilasa pancreática. Sin embargo también parece que la energía de la dieta *per se* puede estimular estos cambios y las interacciones con otros nutrientes como proteínas (Harmon, 1992). Trabajos como el de Chittenden *et. al.* (1984) en el que aplicaron una infusión intraduodenal de glucosa de 200 g/d por un periodo de 16 días encontraron un 35% de aumento en la secreción pancreática de α -amilasa sin

embargo en otro trabajo realizado por Johnson *et al.* (1986) no observaron cambios en la secreción de α -amilasa en ovejas que recibieron infusiones de propionato, a pesar de que hubo cambios en insulina y glucosa sanguínea sugiriendo lo anterior que al aumentar el suministro de carbohidratos aumenta la secreción de α -amilasa pancreática.

Recientemente Swanson *et al.* (2000) al alimentar corderos de 28 kg con una dieta alta en almidón como fuente de energía y otra con menor energía encontraron que aquellos alimentados con la dieta alta en energía tienden a tener más α -amilasa pancreática y presentan mayor actividad de la misma. Por su parte Owens *et al.* (1986) resumieron los resultados de varios experimentos realizados con novillos alimentados con grano de maíz sometido a diferentes tratamientos físicos encontrando que un promedio de 55% del almidón que llega al intestino delgado desaparece allí y encuentran que es una relación lineal, lo cual indica que no hay un límite aparente en cuanto a la cantidad de almidón que desaparecerá en el intestino delgado. Sin embargo, Kreikemeier *et al.* (1991) realizaron un estudio para evaluar simultáneamente la desaparición de carbohidratos en el intestino delgado y la aparición portal de glucosa. En ese trabajo, alimentaron novillos con heno de alfalfa para minimizar el suministro intestinal de carbohidratos e hicieron infusiones abomasales de 20, 40, y 60 g/h de glucosa, almidón de maíz o dextrinas, por un periodo de 10 h para tomar las muestras en las 6 h finales y encontraron que para todos los carbohidratos, al aumentar la cantidad de infusión se incremento la cantidad que desaparecía en el intestino delgado. La infusión de glucosa resultó en incrementos lineales de

glucosa arterial, mientras que la glucosa arterial para novillos que recibieron infusiones de almidón y dextrinas se nivelaron al llegar al punto de 20 g/h de infusión.

1.9- Absorción intestinal de la glucosa

La absorción de glucosa intestinal ocurre principalmente por vía del cotransportador dependiente de Na (SGLT1) localizado en la membrana luminal de los enterocitos facilitando la entrada de glucosa a estos, la cual es estimulada por un gradiente electroquímico mantenido por $\text{Na}^+ \text{K}^+$ ATPasa. (Croom *et al.*, 1998). Existe otro transportador de glucosa basolateral, independiente de sodio que facilita la salida de glucosa desde la célula y si el nivel de glucosa es más bajo en la célula que en la sangre, facilita la entrada de glucosa desde la sangre.

Shirazi-Beechey *et al.* (1991) demostraron que cuando los borregos son destetados, con lo que se causa una reducción en lactosa luminal, decrece la abundancia y actividad específica de SGLT1 y cuando los borregos se mantienen con sustitutos de leche, la abundancia y actividad específica de SGLT1 permanecen altas. Cuando aplicaron infusiones de glucosa a borregas se incrementó dramáticamente la actividad de SGLT1. Más recientemente, Bauer *et al.* (2001), evaluaron el transporte de glucosa en bovinos para carne, los cuales recibieron una infusión ruminal (testigo) o abomasal de una solución parcialmente hidrolizada de almidón para estudiar cómo afecta este carbohidrato la actividad y ubicación de transportadores de glucosa en el intestino delgado. Las infusiones se hicieron durante siete días, posteriormente se sacrificaron los animales y se usaron cinco segmentos equidistantes del intestino delgado para preparar

vesículas del borde de la membrana. La actividad de cotransporte sodio-glucosa no fue afectada por los tratamientos, aunque cambió a lo largo del intestino delgado. La actividad específica de la maltasa fue más alta en el yeyuno y el cotransporte sodio-glucosa en los dos primeros sitios del yeyuno. Sin embargo, la actividad duodenal de maltasa fue más baja mientras que la actividad del cotransporte sodio-glucosa fue más baja.

Estas diferencias en actividad de transporte intestinal de maltasa y glucosa sugieren que la absorción de glucosa no es el primer limitante en la asimilación de almidón en intestino delgado excepto en el ileon. Las señales de regulación de la absorción de glucosa intestinal a una respuesta nutricional, fisiológica y medioambiental no son del todo conocidas. Varias hormonas pueden afectar la regulación del transporte de nutrientes en el intestino, numerosos péptidos reguladores y sus receptores en la superficie celular han sido identificados en el tejido intestinal, tal es el caso del péptido YY (péptido tirosina, tirosina) establecidos en el intestino distal y el EGF (factor de crecimiento epidermal) establecido por todo el epitelio intestinal y en otros tejidos ejerciendo un efecto directo sobre el transporte de glucosa (Bird *et al.*, 1996).

Para los rumiantes que consumen dietas con concentraciones medias o altas de concentrados, cerca del 30% de sus necesidades totales de glucosa pueden provenir de la absorción de glucosa, 50% de la absorción de ácidos orgánicos (sustratos para la gluconeogenesis hepática) y 20% de otras fuentes (Huntington, 1997). Sin embargo, la concentración de glucosa arterio-venosa puede ser influenciada por la composición de la dieta (Beauchemin *et al.*, 1994) pudiendo esperar lo mismo con la concentración de insulina al ser la glucemia el

estimulo más importante para la síntesis y liberación de dicha hormona, ya que las células beta del páncreas se comportan como un glucostato, siendo sensibles a pequeñas variaciones de la concentración de glucosa en la sangre (Camello, 1995). Lo anterior ha sido corroborado por Sano *et al.* (1999) quienes trabajando con vacas y vaquillas a las cuales se midió la concentración de insulina y glucagon como respuesta a la inyección de glucosa, arginina y propionato como estabilizadores del estado endocrino encontraron que la concentración de insulina aumento después de la inyección de glucosa para ambos vacas y vaquillas, al inyectar la arginina y el propionato resultó en un incremento de insulina solo en vaquillas.

2- Justificación

Los estados de homeorresis son estados en que se establecen cambios orquestados o coordinados del metabolismo para apoyar un estado fisiológico prioritario. La lactación representa uno de los estados homeorréticos más importantes en el que se establecen alteraciones marcadas en la repartición de los nutrientes y en el metabolismo general del animal (Bauman y Currie, 1980). La producción de leche puede ser tan alta durante la primera etapa de la lactancia, que resulta difícil satisfacer los requerimientos nutricionales de las vacas. Lo anterior, debido a que la máxima producción de leche ocurre entre las 4 y 6 semanas después del parto, mientras que el mayor consumo voluntario de alimento se alcanza hasta las 8 o 10 semanas (Ayala *et al.* 2001) provocando esto que los animales entren en periodos de balance energético negativo y recurran a la movilización de sus tejidos de reserva con una inevitable pérdida de peso y

otros problemas como lo el alargamiento del periodo de anestro posparto. Recientemente Villagómes *et al.* (2001) al usar jabones de Ca en dietas para vacas indobrasil encontró respuestas favorables en parámetros reproductivos atribuyendo este comportamiento a un más pronto retorno al balance energético positivo posterior al parto. Por su parte Owens *et al.* (1986) al hacer una revisión sobre la digestión del almidón en rumiantes, determinaron que el almidón es utilizado en un 42% más eficientemente cuando es digerido en intestino delgado comparado con la digestión ruminal. De acuerdo con lo anterior seria importante contar con una fuente de energía que aportara mayor densidad energética y glucosa disponible en intestino delgado, para suplementarse en periodos cortos durante los momentos más demandantes para la producción animal.

3- Hipótesis

Al tratar los granos de cereal con grasas saponificadas con sales de calcio y formaldehído, se reducirá la degradación ruminal del almidón contenido en el grano de cereal pasando una mayor cantidad de este al intestino delgado, produciendo periodos de hiperglicemia circulante con el beneficio que esto representa para el animal.

4- Experimento 1. Efecto del tratamiento de granos de cereal con sebo saponificado con sales de calcio y formaldehído sobre la degradabilidad ruminal (*in vitro*) de la materia seca

El objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto de proteger los cereales de con una solución de formaldehído y jabones de calcio sobre su degradabilidad ruminal.

4.1- Materiales y métodos

El experimento se realizó en las instalaciones del CENID-Microbiología ubicado en Palo Alto México D. F. y se emplearon tres métodos de protección a) el rociar una solución de formaldehído (HCHO) representando el 3% de la materia seca directamente sobre los granos de cereal, b) el cubrir con sebo saponificado con sales de calcio (SSCa) en concentraciones de (0, 10, 15, 20 y 25%) y c) la aplicación combinada de los mismos porcentajes de SSCa y HCHO en igual forma que los tratamientos anteriores.

Los SSCa se obtuvieron por medio de la saponificación de sebo de res, siguiendo la técnica descrita por Rivera (1980) sustituyendo las sales de sodio por sales de calcio con el objetivo de crear un jabón menos soluble. El sebo de res se calentó en baño maría, agregando alcohol (30 ml por cada 100 g de sebo líquido) y una solución alcalina de sosa al 30% adicionándose en una cantidad de 50 ml por cada 100 g de sebo. La mezcla se mantuvo en baño maría hasta la saponificación y una vez concluida esta se agregó 300 ml de agua por cada 100 g de sebo, con el fin de disolver el jabón. Sin dejar de agitar, además se agregaron 25 g de cloruro de calcio y 5 g de carbonato de calcio por cada 100 g de sebo.

Posteriormente, se dejó enfriar la mezcla para separar el sobrenadante y la pasta formada se lavó varias veces a chorro de agua sobre una manta para retirar el exceso de sales. Una vez logrado esto, se deshidrató utilizando para ello una estufa de aire forzado a una temperatura de 70 °C por un periodo de 24 h y al final se molió y tamizó usando una criba de 1 mm.

Los granos de cereales utilizados en este trabajo fueron maíz roado, avena roada, trigo roado y trigo quebrado. A estos granos, se les adicionaron los SSCa en concentraciones de 0, 10, 15, 20 y 25% utilizando para ello agua a una temperatura de 20 °C a razón de 14 ml por cada 100 g de la mezcla como medio de adhesión haciendo la mezcla en una mezcladora eléctrica. La mezcla se deshidrató a una temperatura de 60 °C por 24 h en una estufa de aire forzado. La aplicación del HCHO representó el 3% del peso de la materia seca del cereal y se realizó preparando una solución de HCHO al 5% la cual se roció directamente sobre el cereal a razón de 14 ml por cada 100 g de cereal, homogeneizándose en una mezcladora para proceder a deshidratarse a una temperatura de 60 °C por 24 h. El tratamiento que consto de la adición de los SSCa y el HCHO se realizó de igual manera que lo descrito para la adición de los SSCa, sustituyendo el agua por la solución de HCHO. De manera que resultaron los siguientes tratamientos:

- a) Cereal solo
- b) Cereal con HCHO
- c) Cereal con 10% de SSCa
- d) Cereal con 15% de SSCa
- e) Cereal con 20% de SSCa

- f) Cereal con 25% de SSCa
- g) Cereal con 10% de SSCa y HCHO
- h) Cereal con 15% de SSCa y HCHO
- i) Cereal con 20% de SSCa y HCHO
- j) Cereal con 25% de SSCa y HCHO.

El efecto de tratamiento se evaluó con la técnica de digestibilidad *in vitro* (Tilley y Terry, 1973). Por cuadruplicado se colocaron muestras de 0.5 g de cada tratamiento en tubos de ensaye con válvulas Bunsen, a los cuales se adicionaron 25 ml de una solución de saliva de McDougall y líquido ruminal (50/50 v/v) para incubarlos en baño maría a una temperatura de 39 °C en periodos de 12, 24, y 48 h. El porcentaje de digestibilidad de la materia seca se calculó con la siguiente fórmula:

$$MS = \frac{100 \text{ MS de la muestra} - (\text{MS residual} - \text{MS del blanco})}{\text{MS de la muestra}}$$

Los resultados se analizaron de acuerdo a un diseño completamente al azar con un arreglo factorial 4 x 2 x 5 donde 4 fueron los cereales (maíz, avena, trigo rolado y trigo quebrado), 2 los niveles del HCHO (0 y 5%) y 5 los niveles de SSCa (0, 10, 15, 20 y 25%), utilizando la prueba de Tukey para comparar las medias entre los tratamientos mediante el empleo del procedimiento GLM del paquete estadístico SAS (1985).

4.2- Resultados

A pesar de que los resultados se analizaron en conjunto se muestran los efectos principales debido a que el mayor interés fue el efecto de la adición del HCHO y los diferentes niveles de SSCa sobre cada uno de los granos en si.

Al comparar la degradabilidad ruminal de los 4 granos no se encontraron diferencias a las 12 ni a las 24 h, sin embargo a 48 h de incubación, el trigo rolado fue el que presentó menor degradación. (Cuadro 1). Al evaluar el efecto del formaldehído sobre los granos no se observaron diferencias ($P < 0.01$), salvo para el caso del trigo rolado en la incubación de 24 h, con una disminución en la degradación ruminal de 36.1%. En el caso de la avena, el maíz y el trigo quebrado, a pesar de que no se presentaron diferencias significativas, la aplicación del formaldehído tendió a reducir la degradación ruminal en un 6.16, 7.1 y 30.9% respectivamente en la incubación a 48 h (Cuadro 2).

El efecto de la inclusión de los diferentes niveles de SSCa para el caso del trigo rolado, a las 12 h el nivel del 20% disminuyó la degradación ruminal en un 48.16%. Para las 24 h el mismo nivel de inclusión de SSCa causó una reducción del 76.9%, sin embargo a las 48 h la inclusión de SSCa incrementó la degradación ruminal para este grano (Cuadro 3). Con avena rolada al incluir 25% de SSCa disminuyó 24.02% la degradación a las 12 h y 11.8% a las 24 h. (Cuadro 4). Para el maíz rolado, la inclusión del 25% SSCa en la incubación por 24 h resultó en una disminución de 13.19% y a las 48 h, al aplicar 15% de SSCa se redujo 7.68% su degradación (Cuadro 5). En el caso del trigo quebrado en la incubación por 12 h al incluir 25% SSCa se redujo en un 23.2% la degradación y a las 48 h la inclusión del 20% resultó en una reducción del 35.03% (Cuadro 6).

La evaluación de las interacciones cereal por nivel de SSCa- HCHO se presentan en los cuadros 7 a 10 de donde se puede destacar que el tratamiento de 20% de SSCa-CHOH en el trigo rolado disminuyó la degradación ruminal en un 55.23% a las 24 h. Con la avena rolada la inclusión de 25% de SSCa-HCHO a las 12 h causó una reducción del 29.58%, mientras que en el maíz rolado tratado el tratamiento con 25% de SSCa-HCHO causó una disminución del 44.26% a las 48 h. En el caso del trigo quebrado al tratarlo con el 25% de SSCa-CHOH la degradación se redujo en un 14.17% a las 24 h.

Cuadro 1- Porcentaje de degradación ruminal *in vitro* de la materia seca de los granos de cereal sin tratar

Cereal	12 h	24 h	48 h
Trigo rolado	35.69	46.71	31.15 ^a
Avena rolada	45.57	53.76	43.65 ^{ab}
Maíz rolado	39.20	49.05	54.13 ^b
Trigo quebrado	46.08	46.30	57.88 ^b
E.E.	4.7	5.4	5.2

a, b, Literales diferentes en la misma columna indica diferencias $P < 0.01$

E.E.= error estándar

Cuadro 2- Efecto del formaldehído sobre el porcentaje de degradación ruminal de la materia seca

Cereal	HCHO	12 h	24 h	48 h
Trigo rolado	Sin	35.69	46.71 ^a	31.15
Trigo rolado	Con	21.09	24.87 ^b	26.63
Avena rolada	Sin	45.57	53.76	43.65
Avena rolada	Con	34.07	54.91	40.96
Maíz rolado	Sin	39.20	49.05	54.13
Maíz roiado	Con	32.40	48.27	50.24
Trigo quebrado	Sin	46.08	46.30	57.88
Trigo quebrado	con	59.92	56.32	40.49
E.E.		4.7	5.4	5.2

a, b, Literales diferentes en la misma columna indican diferencias $P < 0.01$

E.E.= error estándar, HCHO= formaldehído

Cuadro 3- Efecto de la inclusión de SSCa sobre el porcentaje de degradación ruminal de la materia seca del trigo rolado

% SSCa	12 h	E.E	24 h	E.E	48 h	E.E
0	35.69 ^a	4.7	46.71 ^a	5.4	31.15 ^a	5.2
10	55.99 ^c	5.7	71.19 ^c	6.6	68.73 ^c	6.4
15	29.12 ^{ab}	4.7	35.84 ^a	5.4	46.84 ^{ab}	5.2
20	18.50 ^b	4.7	10.73 ^b	5.4	54.12 ^{bc}	5.2
25	27.55 ^{ab}	4.7	13.29 ^b	5.4	47.34 ^{ab}	5.2

a, b, c, Literales diferentes en la misma columna indica diferencias $P < 0.01$

SSCa= sebo saponificado con sales de calcio, E.E.= error estándar

Cuadro 4- Efecto de la inclusión de SSCa sobre el porcentaje de degradación ruminal de la materia seca de la avena rolada

%SSCa	12 h	E.E	24 h	E.E	48 h	E.E
0	45.57 ^a	4.7	53.76 ^{ab}	5.4	43.65 ^a	5.2
10	79.56 ^c	5.7	78.74 ^a	6.6	81.66 ^c	6.4
15	59.48 ^{ab}	4.7	51.12 ^a	5.4	46.61 ^{ad}	5.2
20	41.70 ^a	4.7	51.69 ^a	5.4	67.20 ^{bc}	5.2
25	34.62 ^a	4.7	47.80 ^a	5.4	61.75 ^{bd}	5.2

a, b, c, Literales diferentes en la misma columna indica diferencias $P < 0.01$

SSCa= sebo saponificado con sales de calcio, E.E.= error estándar

Cuadro 5- Efecto de la inclusión de SSCa sobre el porcentaje de degradación ruminal de la materia seca del maíz rolado

% SSCa	12 h	E.E	24 h	E.E	48 h	E.E
0	39.20 ^a	4.7	49.05 ^a	5.4	54.13 ^a	5.2
10	57.42 ^b	5.7	70.12 ^b	6.6	90.97 ^b	6.4
15	43.27 ^{ab}	4.7	53.90 ^{ab}	5.4	49.85 ^a	5.2
20	46.10 ^{ab}	4.7	45.57 ^a	5.4	53.50 ^a	5.2
25	47.32 ^{ab}	4.7	42.58 ^a	5.4	62.36 ^a	5.2

a, b, Literales diferentes en la misma columna indica diferencias $P < 0.01$

SSCa= sebo saponificado con sales de calcio, E.E.= error estándar

Cuadro 6- Efecto de la inclusión de SSCa sobre el porcentaje de degradación ruminal de la materia seca del trigo quebrado

% SSCa	12 h	E.E	24 h	E.E	24 h	E.E
0	46.08 ^a	4.7	46.30 ^a	5.4	57.88 ^a	5.2
10	75.29 ^b	5.7	65.42 ^a	6.6	73.12 ^{ac}	6.4
15	64.55 ^b	4.7	64.23 ^a	5.4	43.25 ^{ab}	5.2
20	59.48 ^{ab}	4.7	55.41 ^a	5.4	37.60 ^b	5.2
25	35.38 ^{ac}	4.7	56.46 ^a	5.4	66.10 ^{ac}	5.2

a, b, c, Literales diferentes en la misma columna indica diferencias $P < 0.01$

SSCa= sebo saponificado con sales de calcio, E.E.= error estándar

Cuadro 7- Efecto de la interacción HCHO-% SSCa-cereal sobre el porcentaje de degradación ruminal de la materia seca del trigo rolado

HCHO % SSCa	12 h	E.E	24 h	E.E	48 h	E.E
Sin 0	35.69 ^a	4.7	46.71 ^a	5.4	31.15 ^a	5.2
Con 10	46.21 ^{ab}	5.7	55.98 ^{ac}	6.6	66.91 ^b	6.4
Con 15	23.63 ^a	4.7	33.56 ^{ab}	5.4	25.79 ^a	5.2
Con 20	28.60 ^a	4.7	20.91 ^b	5.4	38.65 ^a	5.2
Con 25	34.65 ^{ab}	4.7	32.77 ^{ab}	5.4	39.66 ^a	5.2

a, b, c, Literales diferentes en la misma columna indica diferencias $P < 0.01$

CHOH= formaldehído, SSCa= sebo saponificado con sales de calcio, E.E.= error estándar

Cuadro 8- Efecto de la interacción HCHO-% SSCa-cereal sobre el porcentaje de degradación ruminal de la materia seca de la avena rolada

HCHO % SSCa	12 h	E.E	24 h	E.E	48 h	E.E
Sin 0	45.57 ^a	4.7	53.76 ^a	5.4	43.65 ^a	5.2
Con 10	75.09 ^b	5.7	74.08 ^b	6.6	87.70 ^b	6.4
Con 15	39.66 ^a	4.7	57.39 ^{ab}	5.4	53.56 ^a	5.2
Con 20	36.37 ^a	4.7	55.23 ^{ab}	5.4	44.31 ^a	5.2
Con 25	32.09 ^a	4.7	55.65 ^{ab}	5.4	50.06 ^a	5.2

a, b, Literales diferentes en la misma columna indica diferencias $P < 0.01$

HCHO= formaldehído, SSCa= sebo saponificado con sales de calcio, E.E.= error estándar

Cuadro 9- Efecto de la interacción HCHO-% SSCa-cereal sobre el porcentaje de degradación ruminal de la materia seca del maíz rolado

HCHO % SSCa	12 h	E.E	24 h	E.E	48 h	E.E
Sin 0	39.20 ^a	4.7	49.05 ^a	5.4	54.13 ^a	5.2
Con 10	60.85 ^b	5.7	62.28 ^{ab}	6.6	79.44 ^c	6.4
Con 15	45.15 ^{ab}	4.7	39.24 ^{ac}	5.4	68.02 ^{ac}	5.2
Con 20	32.68 ^a	4.7	45.90 ^{abc}	5.4	63.79 ^{ac}	5.2
Con 25	33.98 ^a	4.7	58.26 ^{ab}	5.4	30.17 ^b	5.2

a, b, c, Literales diferentes en la misma columna indica diferencias $P < 0.01$

HCHO= formaldehído, SSCa= sebo saponificado con sales de calcio, E.E.= error estándar

Cuadro 10- Efecto de la interacción HCHO-% SSCa-cereal sobre el porcentaje de degradación ruminal de la materia seca del trigo quebrado

HCHO % SSCa	12 h	E.E	24 h	E.E	48 h	E.E
Sin 0	46.08 ^a	4.7	46.30 ^a	5.4	57.88 ^a	5.2
Con 10	74.01 ^b	5.7	76.24 ^b	6.6	71.98 ^a	6.4
Con 15	58.38 ^{abc}	4.7	46.95 ^a	5.4	59.05 ^a	5.2
Con 20	61.14 ^{ab}	4.7	44.64 ^a	5.4	57.68 ^a	5.2
Con 25	44.87 ^{ac}	4.7	39.45 ^a	5.4	71.33 ^a	5.2

a, b, c, Literales diferentes en la misma columna indica diferencias $P < 0.01$

HCHO= formaldehído, SSCa= sebo saponificado con sales de calcio, E.E.= error estándar

4.3- Discusión

Al comparar el porcentaje de degradación de la materia seca de los diferentes granos no se observaron diferencias ($P < 0.01$) entre ellos en las incubaciones a 12 y 24 h y es hasta las 48 h de incubación que el trigo rolado difirió ($P < 0.01$) con respecto al maíz y al trigo quebrado, pero fue igual a la avena. Sin embargo, los valores de degradación obtenidos fueron bajos, lo que es atribuible al tipo de rolado realizado a estos granos ya que al haber sido volúmenes mínimos el rolado se realizó de forma manual lo cual pudo no ser homogéneo, además de que la incubación del grano se realizó sin molerse.

Si la degradabilidad de los granos depende de la accesibilidad de los microorganismos del rumen al endospermo (McAllister *et al.*, 1991) en este trabajo la accesibilidad pudo verse limitada a las áreas fracturadas como lo demostraron McAllister *et al.* (1990a). Por su parte Nordin y Camping (1976) demostraron que los granos de cereales enteros son virtualmente indigestibles en rumen.

El comportamiento de la degradación en este trabajo fue similar a lo reportado por Boss y Bowman (1996) quienes compararon tres variedades de cebada con maíz como testigo en una prueba de digestibilidad *in vivo* y no observaron diferencias en la digestión ruminal de cebada o maíz, presentando una digestibilidad promedio de 93%. Sin embargo, la digestión total en todo el tracto digestivo fue mayor para el almidón de la cebada que para el del maíz. Por su parte Herrera-Saldaña *et al.* (1990) demuestran que aun tratando con amilasa diferentes granos de avena, trigo, cebada, maíz y sorgo, estos presentan diferentes porcentajes de degradación del almidón (98% para la avena 95% para

el trigo, 90% para cebada, 62% para el maíz y 49% para el sorgo). El procesamiento del grano va a modificar su digestión o bien el sitio de la digestión. Un ejemplo lo ofrece el trabajo de Zinn y Barajas (1997) los que al utilizar maíz rolado en fresco o secado con aire encontraron un incremento en la concentración de AGV's en rumen para el maíz fresco atribuyendo esto a una mayor tasa inicial en la fermentación, sin embargo el valor alimenticio y las características de digestión no se alteraron. Por su parte Mathinson (1996) reporta que el procesamiento de los granos puede incrementar su valor nutritivo; por ejemplo la digestibilidad de la cebada entera es 16% menor que al ser procesada, en el caso del trigo entero tiene una digestibilidad de 65-75% en contraste con 85-90% al ser procesado.

La inclusión de formaldehído (HCHO) sobre los granos de cereal resultó en una disminución de la degradación ruminal de la materia seca, encontrando que se redujo un 36.1% para el caso del trigo rolado, 30.9% para el trigo quebrado y no se encontraron diferencias estadísticas para el maíz y la avena. Lo anterior coincide con McAllister *et al.* (1990b) quienes al trabajar con granos de cebada tratada con formaldehído observaron una reducción de la degradación microbiana entre las 4 y 24 h de incubación. Así mismo Ortega *et al.* (1998) utilizando granos de maíz y sorgo a los que trataron con 3 g HCHO/100 g del contenido de proteína contenida en los granos y aplicando el HCHO en forma rociada o bien dejando los granos remojarse no encontraron efecto, realizando pruebas *in vitro*. La reducción en la degradación de los granos por efecto del formaldehído se atribuye a la capacidad de este para penetrar a los gránulos de almidón y formar enlaces cruzados entre el grupo hidroxilo del almidón donde las uniones de hidrógeno son

débiles, así como la formación de enlaces entre el almidón y la proteína contenida en el mismo grano, evitando de esta manera la accesibilidad de los microorganismos ruminales (Fluharty y Loerch., 1989, Aguirre *et al.*, 1994)

La inclusión de el sebo saponificado con sales de calcio (SSCa) sobre los granos se realizó con el propósito de cubrir estos con una barrera física haciendo menos disponible los componentes del grano. En este trabajo se utilizaron niveles de 0, 10, 15, 20 y 25 % de SSCa sobre los granos siendo el trigo rolado el que mayor reducción a la degradación presentó al incubarlo por 12 y 24 h conteniendo 15 y 20% de SSCa. Para el caso de la avena, maíz y trigo quebrado la disminución en la degradación de la materia seca fue menor y con los niveles más altos de SSCa, (20 y 25%) lo cual nos hace pensar que esta reducción puede atribuirse directamente al SSCa. El uso de grasas saponificadas con sales de calcio ha sido para evitar los efectos negativos de la inclusión de grasa sin procesar en la dieta para rumiantes (Sukhija y Palmquist., 1990). Así mismo el uso de este tipo de grasas ha sido asociado a un incremento en la concentración de energía en la dieta, a un incremento del contenido de grasa en leche y a un cambio en el perfil de ácidos grasos de la misma (Pérez-Alba *et al.*, 1997). Sin embargo, pocos trabajos han usado a este tipo de grasas como medio de protección para otros nutrientes. Tal es el caso de Kowalski, (1997) quien utilizó jabones de calcio sobre harina de soya en dietas para vacas lecheras, incluyéndolos en un 2% del total de la materia seca y la proteína protegida representando el 4% del total de la dieta, encontrando pequeñas disminuciones en las concentraciones de amonio en el fluido ruminal de la dieta soya-jabón por lo que no se confirmó la protección de la proteína por el uso de los jabones de calcio.

Se evaluó el efecto de la interacción de grano-SSCa-HCHO sobre la degradación ruminal del grano, observándose un efecto en la cantidad de la materia seca degradada la cual se redujo en comparación con los granos sin tratar. Así por ejemplo en la avena, al tratarse con un 25% de SSCa y HCHO e incubarse por 12 h se redujo la degradación ruminal un 29.6%. En el maíz con un 25% de SSCa más el HCHO incubado por un periodo de 48 h se disminuyó un 44.3% su degradación. Con el trigo rolado, la degradación se redujo en un 33.8% al ser incubado por 12 h siendo tratado con 15% de SSCa y HCHO. Esta reducción es atribuida a una disminución en la accesibilidad de los microorganismos a los nutrientes de los granos, pues en este caso el grano está cubierto por el SSCa el cual no es susceptible al ataque de los microorganismos. Lo anterior fue comprobado por Sukhija y Palmquist (1990) quienes realizaron una serie de pruebas de disociación de varias fuentes de grasas saponificadas con sales de Ca encontrando que la disociación máxima se realiza a pH de 5.0 y la mínima a un pH de 6.5 lo que comprueba su inercia en el rumen.

4.4- Conclusiones

El uso de formaldehído y sebo saponificado con sales de calcio aplicado sobre algunos granos de cereales reduce la degradación ruminal *in vitro*, siendo más notorio este efecto en el grano de trigo rolado al incluir un 15 o 20% de sebo saponificado logrando reducir un 55.23% su degradabilidad, mientras el maíz su máxima reducción fue de 44.2% y en los demás (cebada y trigo quebrado) la reducción fue menor, dicho efecto está relacionado a que tanto el HCHO como los SSCa impiden el acceso de los microorganismos a los nutrientes del grano.

5- Experimento 2.- Efecto sobre la degradabilidad ruminal *in vitro* de dos variedades de trigos tratados con una cubierta de sebo saponificado con sales de calcio y formaldehído.

El objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto de tratar con una cubierta de SSCa y HCHO dos variedades de trigo, uno harinoso y otro cristalino sobre su degradabilidad ruminal *in vitro*.

5.1- Materiales y métodos

Para este trabajo se utilizaron trigos rolados en seco de dos variedades conocidas como Pavon (trigo cristalino) y Zacatecas (trigo harinoso), a los cuales se les aplicó 3% de HCHO y 15 o 20% de SSCa de la misma manera que se describió en el trabajo anterior, resultado los siguientes tratamientos:

- a)Trigo solo
- b)Trigo con HCHO
- c)Trigo con 15% de SSCa
- d)Trigo con 20% de SSCa
- e)Trigo con HCHO y 15% de SSCa
- f)Trigo con HCHO y 20% de SSCa

Al igual que en el trabajo anterior los efectos de los tratamientos se evaluaron por medio de la técnica de digestibilidad *in vitro* (Tilley y Terry, 1963), los tiempos de incubación fueron de 24 y 48 h. Los resultados fueron analizados de acuerdo a un diseño completamente al azar con arreglo factorial de 2 x 2 x 3, donde los factores fueron las variedades de trigo (cristalino y harinoso), los niveles de HCHO (0 y 3%) y los niveles de SSCa (0, 15 y 20%).

5.2- Resultados

La degradación ruminal *in vitro* mostró que la variedad del trigo influyó sobre la degradación del mismo lo cual se puede observar en el Cuadro 11, presentando una menor degradación el trigo cristalino. La aplicación de HCHO disminuyó la degradación tanto en el trigo cristalino como en el harinoso (Cuadro 12). En cuanto al efecto de la inclusión de SSCa en el trigo cristalino incubado por 24 h, al incluir el 15% de SSCa se redujo en un 19.1% la degradación de la materia seca y al incluir el 20% de SSCa se redujo la degradación en 14.7% después de incubar por 48 h, sin que se observaran diferencias entre el nivel de inclusión de SSCa (Cuadro 13). En el caso del trigo harinoso la disminución en la degradación sólo se observó a la 48 h, reduciéndose en un 23.8% al incluir 15% de SSCa y 34.9% al incluirse 20% de SSCa. La interacción trigo-HCHO-% SSCa resultó en una disminución de 37% para el trigo cristalino al tratarse con 15% de SSCa-HCHO a las 24 h. Mientras que en el trigo harinoso tratado con 20% de SSCa-HCHO se redujo la degradación en un 39.2% a las 48 h (Cuadro 14). Cabe aclarar que los resultados se muestran en cuadros separados como efectos principales para una mejor observación.

Cuadro 11- Efecto de la variedad sobre el porcentaje de degradación *in vitro* de la materia seca del Trigo

Trigo	24 h	E.E	48 h	E.E
Harinoso	55.68 ^a	2.1	80.38 ^a	1.8
Cristalino	42.43 ^b	1.9	51.00 ^b	1.6

a, b, Literales diferentes en la misma columna indican diferencias $P < 0.01$

E.E.= error estándar

Cuadro 12-Efecto de el formaldehído sobre el porcentaje de degradación de la materia seca

Trigo	HCHO	24 h	E.E.	48 h	E.E.
Cristalino	Sin	42.43 ^a	1.9	51.00 ^a	1.6
Cristalino	Con	29.82 ^b	1.7	40.62 ^b	1.8
Harinoso	Sin	55.68 ^a	1.7	80.38 ^a	1.8
Harinoso	con	38.80 ^b	2.1	77.53 ^a	1.6

a, b, Literales diferentes en la misma columna y la misma variedad indican diferencias $P < 0.01$, E.E.= error estándar, HCHO = formaldehido.

Cuadro 13-Efecto de el nivel de SSCa sobre el porcentaje de degradación de la materia seca

Trigo	%SSCa	24 h	E.E.	48 h	E.E.
Cristalino	0	42.43 ^a	1.9	51.00 ^a	1.6
Cristalino	15	34.33 ^b	1.7	52.08 ^a	1.6
Cristalino	20	34.81 ^b	1.9	40.75 ^b	1.8
Harinoso	0	55.68 ^a	2.1	80.38 ^a	1.8
Harinoso	15	65.53 ^b	1.7	61.27 ^b	2.0
Harinoso	20	53.13 ^a	1.7	52.29 ^c	1.8

a, b, Literales diferentes en la misma columna y la misma variedad indican diferencias $P < 0.01$, SSCa= sebo saponificado con sales de calcio, E.E.= error estándar

Cuadro 14- Efecto de la interacción formaldehído-SSCa-trigo sobre el porcentaje de degradación de la materia seca

Trigo	HCHO	%SSCa	24 h	E.E.	48 h	E.E.
Cristalino	Sin	0	42.43 ^a	1.9	51.00 ^a	1.6
Cristalino	Con	15	26.72 ^b	1.7	40.75 ^b	1.8
Cristalino	Con	20	33.63 ^c	1.9	39.47 ^b	1.8
Harinoso	Sin	0	55.68 ^a	1.8	80.38 ^a	1.8
Harinoso	Con	15	51.20 ^{ab}	1.9	50.43 ^b	2.0
Harinoso	Con	20	48.73 ^b	1.7	48.88 ^b	1.6

a, b, c, Literales diferentes en la misma columna y la misma variedad indican diferencias $P < 0.01$, SSCa= sebo saponificado con sales de calcio, HCHO= formaldehído, E.E.= error estándar

5.3- Discusión

La composición del grano puede variar con la variedad, el hibridismo, las condiciones del medio ambiente y cosecha, con el secado y el método y tiempo de almacenado (Owens *et al.*, 1997). Al comparar las dos variedades de trigo, se encontraron diferencias ($P < 0.01$) en el porcentaje de degradación de la materia seca tanto a las 24 como a las 48 h de incubación, presentando una mayor degradación el trigo harinoso. Cabe mencionar que ambas variedades

fueron roladas en seco y la incubación se realizó usando las hojuelas enteras por lo que los valores de degradación pueden estar subestimados de acuerdo a lo que ocurriría en condiciones *in vivo*. Sin embargo, algunos trabajos muestran el efecto de la variedad entre un mismo grano, como en el caso de Wester *et al.* (1992) quienes realizaron la digestibilidad *in vitro* de 48 granos de sorgo en los que determinaron contenido de almidón y la desaparición del mismo, encontrando que el contenido de almidón varió entre un 64.3 y 70%, y la desaparición fue de entre 5.2 y 6.4 %/h, dependiendo de la variedad de sorgo.

La aplicación de formaldehído redujo en un 25% la degradación del trigo cristalino y 33.4% la del harinoso, lo anterior coincide con lo observado por Fluharty y Loerch. (1989), quienes utilizaron niveles crecientes de formaldehído aplicado a granos de maíz y encontraron una disminución lineal en la degradación de la materia seca, materia orgánica y fibra detergente ácida por efecto de la adición de formaldehído. Por su parte McAllister *et al.* (1990b) al tratar cebada con formaldehído también reportan una reducción en la degradación en las primeras 24 h al evaluar la degradación por medio de pruebas *in vitro*, efecto que comprobó Aguirre (1994) al evaluar el efecto de aplicar formaldehído en granos de maíz y sorgo.

El uso de sebo saponificado con sales de calcio (SSCa) sobre los granos de trigo resultó en una disminución de la degradación de la materia seca que en el caso del trigo cristalino fue de un 19.1 y 14.7% a las 24 y 48 h respectivamente. En el caso del trigo harinoso el efecto se observó hasta las 48 h reduciéndose en un 37% su degradación cuando se empleó el 20% de SSCa, efecto que confirmó lo observado en el primer experimento y que coincide con los resultados obtenidos

por Pérez Alba *et al.* (1997) quienes incluyendo un 10% de jabones de calcio en dietas para ovejas lecheras reportaron una reducción significativa en la degradación ruminal de la materia seca de dichas dietas.

Al evaluar el efecto de la interacción SSCa-formaldehído-trigo se observó una reducción de hasta un 37% en la degradación de la materia seca para ambas variedades, corroborando lo observado en el primer experimento. Lo anterior podría atribuirse a la menor disponibilidad de los nutrientes del grano para su degradación debido a los enlaces formados entre el formaldehído y la proteína del grano (Fluharty y Loerch *et al.*, 1989) y el efecto protector de la cubierta de SSCa que al no disociarse en el rumen impidió la degradación del grano. El cubrir los granos para evitar su rápida degradación ha sido reportado por Bernad *et al.* (2001), quienes usando semilla de algodón cubiertas con almidón gelatinizado y urea observaron mediante pruebas *in vitro*, que la fermentación de la semilla de algodón se redujo por el efecto de recubrimiento ocasionado por el almidón gelatinizado y la urea.

5.4- Conclusión

Los resultados del presente trabajo muestran que el tratar con sebo saponificado con sales de calcio y formaldehído granos rolados de trigo es posible reducir su degradación ruminal *in vitro*, debido lo anterior a la indisponibilidad de los nutrimentos por efecto del recubrimiento del grano y por el tipo de la presentación de estos (rolados), así como a la falta de el efecto de la masticación que en esta técnica es omitido.

6- Experimento 3.- Degradabilidad ruminal *in situ* de trigo tratado con sebo saponificado con sales de calcio y formaldehído

Este trabajo se realizó con el objetivo de evaluar el efecto de tratar el grano de trigo con sebo saponificado con sales de calcio y formaldehído sobre la degradabilidad ruminal *in situ* del almidón contenido en el cereal.

6.1- Materiales y métodos

Se uso un diseño completamente al azar con cuatro borregos con cánula ruminal, alojados en jaulas individuales con piso de madera, acceso a libertad a agua fresca y alimentados con una dieta basada en 30% forraje (paja de avena) y 70% grano (trigo), la dieta base se ofreció en una cantidad como para cubrir solamente el 90% del consumo de materia seca dando como periodo de adaptación 14 días previos a la toma de muestras. Se evaluaron las mismas variedades de trigo que se emplearon en el experimento dos (Pavón y Zacatecas) con la diferencia de que estas se molieron utilizando una criba de 1.5 mm previas a ser tratadas con 15% de SSCa y 3% de HCOH, por lo que se realizaron 4 tratamientos a evaluar: 1) trigo harinoso (TH), 2) trigo harinoso tratado (THT), 3) trigo cristalino (TC) y 4) trigo cristalino tratado (TCT).

Los tratamientos se evaluaron por duplicado incubando en rumen por 0, 4, 8, 12 y 24 h, utilizando bolsas de poliseda de 6 x 12 cm y tamaño de poro de 20-40 micrones, previamente puestas a peso constante y debidamente identificadas. Se colocaron 2 g. de trigo de cada tratamiento por bolsa para ser colocadas en el interior del rumen atadas a un cordel de 10 cm de largo (Umunna *et al.*, 1995). Después de la incubación las muestras se lavaron sumergiéndolas primero en un recipiente con agua fría varias veces y posteriormente a chorro de agua suave

dejando escurrir por 24 h. Posteriormente se secaron en una estufa a 70 °C por 24 h. La solubilidad al tiempo 0 se midió sumergiendo por duplicado muestras de cada uno de los tratamientos en agua a una temperatura de 39 °C durante 5 min para posteriormente lavarse en agua corriente por 2 min y secarse a 70 °C (Castellanos *et al.*, 1990).

La determinación del almidón se realizó de la manera siguiente: se deshidrató la muestra a 60 °C por 12 h, para molerse utilizando un tamiz de 1 mm; por duplicado se pesaron 100 mg de muestra y fueron colocados dentro de un tubo de ensaye de 40 ml con tapa de rosca; a demás se incluyeron muestras de glucosa y blancos como control. A cada uno de los tubos se le agregaron 25 ml de acetato buffer y 50 µl de enzima takatrherm L-340 (la cual es una termo amilasa) cerrando los tubos y agitando ligeramente para proceder a incubar en baño maría a una temperatura de 90 °C durante 30 min. Asegurándose la taparosca, después de 5 min los tobos se agitaron ligeramente durante tres ocasiones durante la incubación. Al termino de este tiempo, se retiraron los tubos del baño maría y se redujo la temperatura a 60 °C para agregar 100 µl/tubo de la enzima Diazyme L-200 (que es una gluco-amilasa) asegurando la tapa y agitando ligeramente para dejar incubar a 60 °C por un mínimo de 12 h. Concluido el periodo de incubación se retiraron los tubos del baño maría y se transfirió una alícuota de 5 ml a un tubo para ser centrifugado a 2000 rpm durante 10 min. Al término de la centrifugación, se tomó una muestra de 1 ml del sobrenadante para colocarlo en un tubo limpio y diluirlo a 10 ml con agua destilada. De esta solución se tomaron 200 µl y se hicieron reaccionar con 2 ml de glucosa oxidasa (Sigma kit

glucosa trinder), dejando reposar 20 min. La reacción anterior se midió en un espectrofotómetro utilizando una longitud de onda de 505 nm con una curva estándar de glucosa con 0, 100, 200, 300 y 400 μ l (Herrera-Saldaña y Huber, 1989)

Para estimar los parámetros de la cinética de digestión se uso el modelo de cinética de primer orden, haciendo una regresión entre el tiempo y el logaritmo natural del porcentaje de almidón residual con la siguiente ecuación: $AR = -k t + Ro$ donde AR = logaritmo natural del porcentaje de almidón residual; -k = pendiente, tasa de degradación, t = tiempo de incubación y Ro = almidón residual al tiempo cero (Mendoza *et al.*, 2000)

6.2- Resultados

Se observó una reducción en la degradación de la materia seca por efecto del tratamiento, sin embargo solo hasta las 24 h se detectaron diferencias estadísticas ($P < 0.05$) reduciéndose la degradabilidad ruminal tanto del TCT en un 4% como la de THT en un 5%, sin observarse diferencias por la variedad (Cuadro 15).

En el caso de la degradación de almidón, se observaron diferencias por efecto de variedad ($P < 0.05$) y no así por la inclusión de SSCa y HCHO. Las diferencias encontradas no se mantuvieron a las 24 h (Cuadro 15). La tasa de degradación del almidón para TC no se vio afectada por efecto del tratamiento (TC, $K_d = 11.1\%/h$ y TCT, $K_d = 11.5\%/h$). Sin embargo en el TH se incremento la tasa de degradación por efecto de tratamiento (TH, $K_d = 15\%/h$ y THT, $K_d =$

21.1%/h), lo cual puede explicarse porque se redujo la digestión a las 24 h (70.28 vs 75.33%).

Cuadro 15- Degradación *in situ* (%) de la materia seca y del almidón

Tratamiento	Materia seca				Almidón			
	4 h	8 h	12 h	24 h	4 h	8 h	12 h	24 h
Trigo cristalino	41.14 ^a	61.62 ^a	62.10 ^a	73.84 ^a	42.49 ^a	64.89 ^a	77.50 ^a	93.90 ^a
Trigo cristalino tratado	38.99 ^a	55.56 ^a	56.28 ^a	69.66 ^b	41.04 ^a	73.24 ^{ab}	77.02 ^a	94.74 ^a
Trigo harinoso	41.14 ^a	59.53 ^a	56.28 ^a	75.33 ^a	65.80 ^b	80.86 ^b	87.26 ^b	98.28 ^a
Trigo harinoso tratado	37.60 ^a	57.88 ^a	58.39 ^a	70.28 ^b	59.27 ^b	80.67 ^b	87.44 ^b	99.40 ^a
E.E.	1.66	1.23	1.79	1.08	4.25	2.53	2.19	3.80

a,b, literales diferentes en la misma columna indican diferencias $P < 0.05$

E.E.= error estándar

6.3- Discusión

La degradación de la materia seca para las dos variedades de trigo sin tratar fue similar a través del tiempo, mientras que la degradación del almidón fue diferente a las 12 h de incubación para igualarse a las 24 h. La digestión ruminal del almidón es el resultado de las tasas de digestión y pasaje, por lo cual los factores que modifiquen alguna de estas o ambas afectarán la extensión de la digestión del almidón. El consumo de almidón, la variedad del grano o su procesamiento, el nivel de amonio en rumen, el forraje ofrecido al animal y por lo tanto las interacciones entre estos van a modificar la digestión del almidón en el rumen (Mendoza y Ricalde; 1993). Algunos trabajos muestran el efecto de la variedad dentro de un mismo grano sobre la degradación ruminal del almidón que contiene. Tal es el caso de Wester *et al.* (1992) quienes utilizando el procedimiento *in vitro* investigaron 48 variedades de sorgo y encontraron que el contenido de almidón y su tasa de desaparición varió entre 64.3 - 70% y 5.2 - 6.4 %/h respectivamente de acuerdo a la variedad de grano.

En el presente experimento no se trató el trigo solo con formaldehído sino una combinación de SSCa y HCHO para aprovechar el efecto protector de ambos compuestos. Con dicho tratamiento, la degradación de la materia seca mostró una tendencia a ser reducida las primeras 12 h y fue diferente ($P < 0.05$) a las 24 h por efecto del tratamiento. Al medir el porcentaje de almidón degradado no se mostró una reducción atribuible al tratamiento, sino solamente por efecto de la variedad

del trigo. La degradación de almidón fue menor para el trigo cristalino comparado con el trigo harinoso, sin embargo ésta diferencia desapareció a las 24 h. En anteriores y como el de Oke *et al.* (1991), quienes alimentaron borregos con dietas a base de maíz tratado o sin tratar con una solución de 37% HCHO, si se ha observado una reducción de la digestión ruminal del almidón hasta del 38% por efecto del tratamiento. Sin embargo McAllister *et al.* (1992) no encontraron disminución en la degradación ruminal del almidón al tratar cebada con HCHO en dietas para toretes. Los autores antes mencionados atribuyen la falta de protección de la cebada apartir de la aplicación de HCHO, al efecto de la masticación del grano que puede destruirla matriz proteínica y por lo tanto la habilidad del HCHO para alterar la digestión del grano. Así mismo comenta, que dicha situación no se replica en estudios *in vitro* e *in situ*, lo cual determina una limitación de estas técnicas

En el presente experimento sólo se observó una reducción en la degradación de la materia seca por efecto del tratamiento para ambas variedades de trigo y no así en la degradación del almidón. Lo observado coincide con el trabajo de Pérez-Alba *et al.* (1997), quienes incluyeron un 10% de jabones de calcio en dietas para borregas y encontrando que la digestibilidad de la materia seca se redujo, pero no la de otros nutrientes. Por su parte Ohajruka *et al.* (1991) estudiaron el efecto de la inclusión de jabones de calcio sobre la degradación de la fibra, nitrógeno y la síntesis de proteína microbiana y encontraron que el incluir hasta un 5% de Jabones de calcio no influyó sobre la degradabilidad del forraje, el pH ruminal ni la síntesis de proteína microbiana.

En pocos trabajos se ha evaluado interacción entre grasa y formaldehído como agentes para los granos y su contenido de la degradación ruminal. Sin embargo, Shell *et al.* (1978) realizaron un trabajo utilizando caseína-aceite de algodón tratado con HCHO incluido en 8 o 12%, y encontraron que la degradabilidad de la materia seca, proteína, FDA y energía bruta no se afectó y que la aparición de jabones en heces fue menor para la dieta conteniendo caseína-aceite tratada con HCHO.

6.4- Conclusión

El tratar granos de trigo molido con sebo saponificado con sales de calcio y formaldehído solo se reduce la degradabilidad de la materia seca al incubarlo *in situ* por 24 h mientras que la degradabilidad del almidón no se ve afectada, este efecto podría estar relacionado con la accesibilidad que tuvieron los microorganismos a los gránulos de almidón los cuales al estar molidos los granos estuvieron más disponibles, así como a la técnica usada en la cual los granos se expusieron a un ambiente ruminal real.

7- Experimento-4 Efecto de la inclusión en la dieta de ovinos de trigo rolado cubierto con sebo saponificado y formaldehído sobre el flujo de almidón a duodeno.

El objetivo de este experimento fue el evaluar si la inclusión de trigo tratado con sebo saponificado con sales de calcio y formaldehído modifica el flujo de almidón a duodeno así como los niveles circulantes de glucosa e insulina.

7.1- Materiales y métodos

Se utilizaron 10 borregos Suffolk-Rambouillet fistulados en duodeno y 12 más sin cánula con un peso promedio de 30 ± 0.415 kg. La cánula se colocó según la técnica de Komarek (1981). Los animales fueron alimentados para cubrir el 90% del consumo de materia seca de acuerdo a lo estimado previamente. Las dietas experimentales (Cuadro 16) se elaboraron para cubrir las necesidades de proteína para mantenimiento NRC (1985). El período de adaptación a las dietas experimentales fue de 7 días, periodo durante el cual se sustituyó gradualmente la dieta basal (elaborada con los mismos ingredientes pero con trigo duro rolado sin tratar) hasta llegar a un consumo del 100% de las dietas experimentales.

Los tratamientos fueron el resultado de sustituir el trigo sin tratar por trigos tratados (con una capa de SSCa al 15% y 3% de formaldehído), resultando los siguientes: a).- Dieta con trigo harinoso tratado (THT) b).- Dieta con trigo harinoso sin tratar (TH) c).-Dieta con trigo cristalino tratado (TCT) d).-Dieta con trigo cristalino sin tratar (TC) y e).-Dieta con salvado de trigo como testigo (S) usado este para disminuir la cantidad de almidón en la dieta (cuadro 16).

El SSCa se obtuvo al saponificar sebo de res y agregando sales de calcio, el formaldehído se aplicó en solución al 15% a razón de 14 ml por cada 100 g de materia seca, para lo cual se utilizó una mezcladora de tolva poniendo el trigo rolado y agregando de forma pausada el SSCa representando el 15% de la materia seca y el formaldehído procediendo posteriormente a secar la mezcla en una estufa a 60 °C por 24 h.

Cuadro 16. Composición (%) de las raciones experimentales.

Ingredientes	Salvado	Trigo	Trigo	Trigo	Trigo
	de trigo	cristalino	Cristalino	harinoso	Harinoso
		Tratado		tratado	
Paja de avena	63.6	53.2	53.2	53.2	53.2
Alfalfa	27.3	22.8	22.8	22.8	22.8
Trigo		22.8	19.4	22.8	19.4
Sebo saponificado	4.1		3.4		3.4
Salvado de trigo	3.6				
Sales minerales	1.4	1.2	1.2	1.2	1.2
Composición estimada	Salvado de trigo	Trigo cristalino	Trigo cristalino	Trigo harinoso	Trigo harinoso
		tratado		tratado	
MS	71.2	73.2	73.2	73.2	73.2
PC	8.3	9.1	9.1	9.1	9.1
Almidón	9.3	22.4	22.4	22.4	22.4

La composición estimada del contenido de MS, PC y almidón de las dietas se realizó en base a valores tabulados por el NRC (1996)

Para determinar el flujo de almidón a duodeno se realizaron cinco periodos de muestreo de contenido duodenal con dos animales por tratamiento en cada periodo, resultando así 10 repeticiones por tratamiento. Las muestras dentro de cada periodo fueron colectadas cada 2 h por un total de 24 h y la cantidad de almidón en ellas, medido como glucosa derivada, se determinó de acuerdo con la técnica descrita por Herrera y Huber (1989) en muestras del contenido duodenal, tomadas cada 2 h por un periodo de 24 h.

Para determinar las concentraciones circulantes de glucosa e insulina, se emplearon 12 borregos sin canular con las mismas características y condiciones de manejo a las de los borregos canulados. Los animales fueron asignados aleatoriamente a los grupos experimentales (S n=2, TC n=2, TCT n=3, TH n=2 y THT n=3) y muestreados directamente de la vena yugular para la obtención de sangre. La primera muestra sanguínea se colectó en ayunas y posteriormente a intervalos de 2 horas durante las 24 h posteriores al consumo de las dietas experimentales. Estas muestras fueron centrifugadas (1500 rpm/15 min) dentro de los primeros 15 min después de colectadas y el suero obtenido se almacenó a -20° C hasta su análisis en el laboratorio. La determinación de glucosa sérica se hizo utilizando un estuche comercial de (Glucosa Trinder; Sigma diagnostic St. Louis MO. USA.) basado en la reacción de glucosa oxidasa y espectrofotometría a 505 nm, (Trinder P. 1969, Caraway 1976). la determinación de insulina sérica se hizo mediante radioinmunoensayo de fase sólida (Diagnostic Products Corporation. Los Angeles CA.), Berntorp K, (1983), Schade *et al* (1980). Cabe

aclarar que faltan los datos de las 18 h debido ha que no fue posible tomar esa muestra por fallas eléctricas.

El análisis estadístico de los resultados (glucosa duodenal y glucosa e insulina séricas) se realizó mediante ANDEVA para un diseño de mediciones repetidas en el tiempo, considerando como factores al tratamiento, tiempo de muestreo y su interacción. Adicionalmente, se estimaron las concentraciones mínima, máxima, media y total de glucosa e insulina durante los periodos de muestreo, las cuales se analizaron por ANDEVA para un diseño completamente al azar considerando como factor el efecto de tratamiento. En su caso, la separación de medias se hizo mediante la prueba de Tukey y en general se consideró como criterio de diferencia una $P \leq 0.05$ (SAS, 1985).

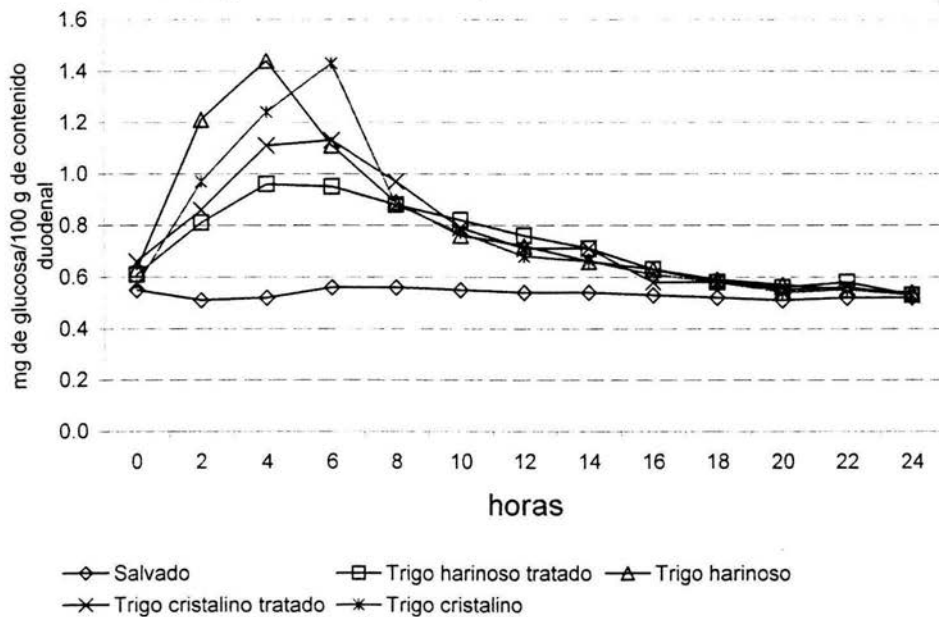
7.2- Resultados

Las concentraciones de almidón, expresado como glucosa, en el contenido duodenal a partir de las 2 h posteriores al consumo de las dietas experimentales y hasta las 14 h fueron mayores para las dietas que contenían trigo con respecto al testigo con salvado ($P < 0.05$). Sin embargo, entre las dietas con trigo sólo se encontraron diferencias en la s primeras 2 h ($P < 0.05$) a favor del trigo harinoso sin tratar (THT), con una concentración de 1.2 mg/100 g de contenido duodenal (Figura 1), No se observaron diferencias ($P > 0.05$) por efecto de variedad de trigo y/o tratamiento aplicado, en las concentraciones mínima, máxima, media y total de almidón en contenido duodenal (mg/g) durante el periodo de muestreo (Cuadro 17). Sin embargo con excepción de la concentración mínima, los valores de

glucosa en duodeno durante el periodo de muestreo fueron menores en el grupo testigo de salvado de trigo en comparación con los demás tratamientos. Las concentraciones séricas de glucosa e insulina no se vieron influenciadas ($P > 0.05$) por los efectos de tratamiento, tiempo de muestreo o su interacción (Figura 2 y 3; Cuadros 18 y 19).

al comparar la variedad de trigo no se encontró diferencia teniendo como media 0.0074 mg/g para TC y 0.0079 mg/g para TH, tampoco se encontraron diferencias por efecto de tratamiento (inclusión de SSCa y HCHO), presentando una concentración máxima de 0.0114, 0.0125, 0.0114 y 0.0140 mg/g para TCT, TC THT y TH respectivamente (Cuadro 17). En el caso de los niveles circulantes de glucosa no se encontró ningún efecto de tratamiento con relación al tiempo lo que se muestra en la (Figura 2 y Cuadro 18). Para el caso de las concentraciones de insulina tampoco se vio afectado por la inclusión de SSCa y HCHO (Cuadro 19 y Figura 3).

Figura1- Concentración de almidón en duodeno expreso como glucosa, a través del periodo de muestreo

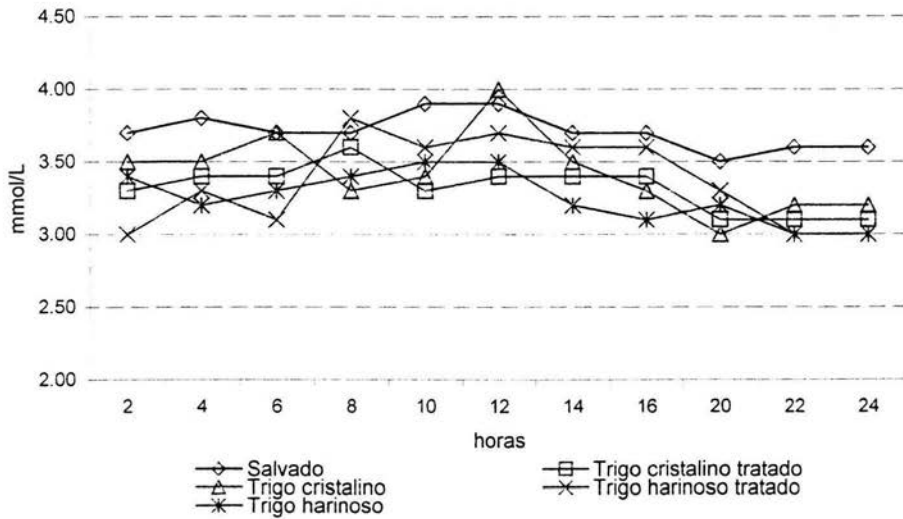


tratamiento P= 0.0001

tiempo de muestreo P= 0.0001

tratamiento x tiempo P= 0.0001

Figura 2- Concentración sérica de glucosa a través del periodo de muestreo sanguínea



tratamiento P= 0.2238

tiempo de muestreo P= 0.0045

tratamiento x tiempo P= 0.064

Cuadro 17- Concentraciones mínima, máxima, media y total de almidón expresado como glucosa en contenido duodenal (mg/g) durante el periodo de muestreo

Tratamiento	Concentración (mg/g)			
	Mínima	Máxima	Media	Total
Salvado de trigo	0.0051 ^a	0.0050 ^a	0.0053 ^a	0.069 ^a
Trigo cristalino tratado	0.0052 ^a	0.0114 ^b	0.0075 ^b	0.097 ^b
Trigo cristalino	0.0053 ^a	0.0125 ^b	0.0074 ^b	0.096 ^b
Trigo harinoso tratado	0.0053 ^a	0.0114 ^b	0.0071 ^b	0.093 ^b
Trigo harinoso	0.0054 ^a	0.0140 ^b	0.0079 ^b	0.103 ^b
E.E.	0.00014	0.0010	0.00023	0.0031

a, b, literales diferentes en la misma columna indica diferencias ($P < 0.05$)

E.E.= error estándar

Cuadro 18- concentraciones mínima, máxima, media y total de glucosa sérica
(mmol/L) durante el periodo de muestreo

Tratamiento	Concentración (mmol/L)							
	Mínima	E.E	Máxima	E.E	Media	E.E	Total	E.E
S	3.20	0.14	3.95	0.25	3.60	0.16	42.90	1.91
TCT	2.83	0.11	3.60	0.20	3.33	0.13	39.40	1.56
TC	3.15	0.14	4.50	0.25	3.60	0.16	43.05	1.91
THT	2.90	0.11	3.40	0.20	3.35	0.13	40.20	1.56
TH	2.70	0.14	4.10	0.25	3.50	0.16	39.15	1.91

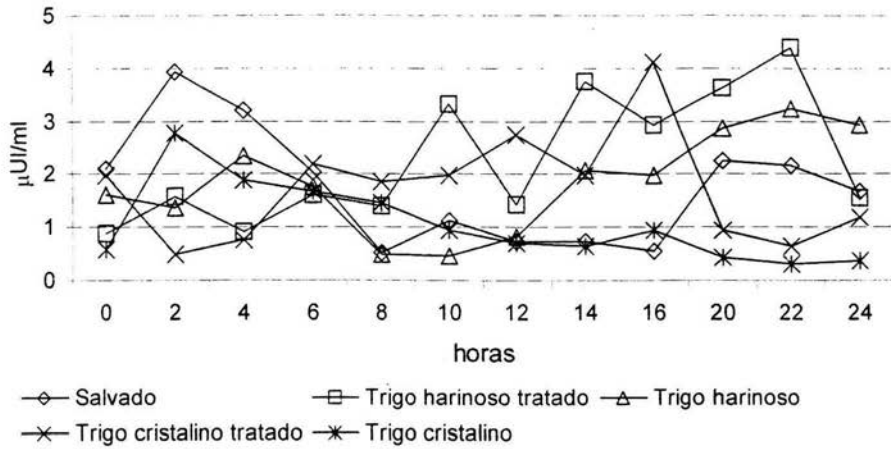
S = salvado, TCT = trigo cristalino tratado, TC = trigo cristalino, THT = trigo harinoso tratado, TH = trigo harinoso., E.E.= error estándar

Cuadro 19- Concentraciones mínima, máxima, media y total de insulina sérica
(μ UI/ml) durante el periodo de muestreo

Tratamiento	Concentración (μ UI/ml)							
	Mínima	E.E	Máxima	E.E	Media	E.E	Total	E.E
S	0.30	0.039	4.98	0.928	1.75	0.268	21.05	3.216
TCT	0.36	0.032	4.23	0.758	1.74	0.219	20.88	2.626
TC	0.30	0.039	3.07	0.928	1.06	0.268	12.75	3.216
THT	0.32	0.032	6.23	0.758	2.20	0.219	26.43	2.626
TH	0.30	0.039	4.98	0.928	1.82	0.268	21.95	3.216

S = salvado, TCT = trigo cristalino tratado, TC = trigo cristalino, THT = trigo harinoso tratado, TH = trigo harinoso, E.E.= error estándar

Figura 3- Concentración sérica de insulina a través del periodo de muestreo



tratamiento P= 0.11

tiempo de muestreo P= 0.88

tratamiento x tiempo P= 0.40

7.3- Discusión

En el presente experimento se midió el paso de almidón a duodeno utilizando las dos variedades de trigo tratados o sin tratar, encontrando que la concentración de almidón el cual se midió como glucosa liberada en el duodeno fue diferente ($p < 0.05$) entre las dietas conteniendo trigo y la dieta usada como testigo la cual se elaboró con salvado de trigo lo que se atribuye a que el consumo de almidón fue mayor para las dietas conteniendo trigo. Sin embargo no se encontraron diferencias entre los tratamientos, lo que coincide con los resultados del tercer experimento donde el tratar con SSCa más HCHO no se redujo la degradabilidad ruminal del almidón. Así mismo, lo anterior coincide con los resultados publicados por Klusmeyer *et al.* (1991), quienes utilizando sales de Ca de ácidos grasos en dietas para vacas lecheras observaron una disminución en el consumo de almidón pero no un cambio en el flujo de almidón a duodeno. Por su parte, en la revisión realizada por Nocek y Tamminga (1991) se observó que al tratar los granos con formaldehído no se afectaba el flujo de almidón al duodeno pero el flujo de proteína era mayor, resultados que al igual que en el presente estudio contrastan con reportes donde se indica que la aplicación de HCHO sobre granos de cereales deprime la digestión del almidón a nivel ruminal (McAllister *et al.* 1990; Aguirre, 1994). De igual manera se ha encontrado que el adicionar SSCa a los granos deprime la degradación de la materia seca de los mismos, según fue observado por Pérez-Alba *et al.* (1997), al incluir un 10% de jabones de Ca en dietas para ovejas. Sin embargo, en dicho trabajo no se

deprimió la degradación de otros nutrientes, lo cual puede estar relacionado con el efecto que tiene la masticación, el cual es omitido en pruebas *in vitro* e *in situ*, al destruir la matriz proteica de los granos y afectar la habilidad de los agentes protectores para alterar la digestión ruminal del almidón (McAllister *et al.*, 1992). En el mismo sentido, Beauchemin *et al.* (1994) al estudiar los efectos de la masticación sobre la digestión de granos enteros, concluye que granos como la cebada y el trigo son extensamente dañados durante la masticación.

En el presente experimento, también se determinó si el tratar con SSCa más HCHO granos de trigo rolado modificaba las concentraciones circulantes de glucosa e insulina. En relación a ello, se observó que las dietas experimentales no influyeron sobre estas variables. Una posible explicación a esto es el que en determinadas circunstancias no toda la glucosa obtenida a partir de la digestión duodenal del almidón es absorbida hacia la sangre portal (Axe *et al.*, 1887; Huntington *et al.*, 1986). Kreikemeier *et al.* (1991), quienes evaluaron simultáneamente la desaparición de carbohidratos en el intestino delgado y la aparición portal de glucosa, después de realizar infusiones abomasales en novillos de 20, 40 y 60 g/h de glucosa, almidón de maíz o dextrinas, encontraron que en todos los casos al aumentar la tasa de infusión se incrementaba la tasa de desaparición a nivel de intestino delgado. Sin embargo el incremento en la tasa de infusión de glucosa resultó en incrementos lineales de glucosa portal, mientras que en las infusiones de almidón y dextrinas se alcanzó un máximo de glucosa portal con la tasa de infusión de 20 g/h. En el caso de la infusión de almidón se estimó una tasa máxima de desaparición de 38 g/h con un flujo neto portal de

glucosa de 12 g/h, lo cual deja sin explicar 26 g/h, que pudieron ser utilizados por el epitelio intestinal o bien por bacterias existentes en su superficie.

En un trabajo similar Branco *et al.* (1999) usando toretes fistulados en duodeno e ileon infusieron almidón hidrolizado (10, 20 o 40 g/h) o glucosa (30 g/h) y encontraron que el flujo ileal de almidón se incrementó cuadráticamente al aumentar la infusión duodenal del almidón hidrolizado. Así mismo, el aumento en la tasa de infusión de almidón incremento linealmente su desaparición, aunque la eficiencia verdadera de desaparición en intestino delgado disminuyó cuadráticamente, mientras que se aumentó la desaparición verdadera en intestino grueso. De acuerdo a ello los, los autores anteriores proponen que la capacidad de absorción de glucosa por el intestino delgado puede estar limitada cuando el flujo de almidón a esta sección intestinal es elevada. Por su parte Walker y Harmon, (1995) reportan que en bovinos al infundir almidón hidrolizado en abomaso de bovinos hubo un incremento lineal en la concentración de glucosa portal. No obstante, en estos trabajos no se evaluaron las concentraciones de glucosa y/o insulina en la circulación periférica, las cuales no fueron influenciadas por el consumo de trigos tratados para disminuir su degradación ruminal en el presente trabajo. A diferencia de ello, (Knowlton *et al.*, 1998) observaron una tendencia a incrementar la insulina plasmática después de infundir almidón en el abomaso de vacas lecheras.

Oke *et al.* (1991) quienes utilizaron maíz tratado con HCHO en dietas para borregos encontraron un incremento del 21% en la concentración de glucosa sanguínea. Sin embargo, Pastrana *et al.* (2002) y Peña *et al.* (2002) al utilizar trigo cristalino tratado de igual manera que en el presente trabajo en dietas para cabras

o borregas no encontraron efectos en la concentración periféricas de glucosa aun que en el primer caso si se observo un ligero incremento temporal en la concentración de insulina tanto de insulina.

En otro trabajo utilizando sales de calcio de ácidos grasos de cadena larga a diferentes niveles en dietas para vacas lecheras, se encontró que las concentraciones plasmáticas de glucosa no se vieron afectadas mientras que las de insulina disminuyeron linealmente al aumentarla inclusión de la grasa (Chui-Byungryul *et al.*, 1996). Así mismo Teh *et al.* (1994) incluyendo niveles de 0, 3, 6 y 9% de grasa inerte en la dieta de cabras a partir de la segunda semana de lactación y por un periodo de 10 semanas encontraron que no se incrementó el nivel de glucosa sanguíneas. Por su parte Fujita *et al.* (2000) trabajando con machos cabrios a los cuales ofrecieron dietas con 1, 1.5 y 2 veces el requerimiento de energía metabolizable para mantenimiento a partir de almidón de maíz por un periodo de 21 días, encontraron que aunque se aumentaba el nivel de propionato con el incremento en el consumo de energía, al mismo tiempo que no variaban las concentraciones plasmáticas de insulina y glucosa .

Una posible razón por lo cual el aumento en el flujo duodenal de almidón no es capaz de modificar la concentración de glucosa sanguínea, es porque este almidón puede ser fermentado y utilizado por microorganismos en el intestino delgado. En ese sentido se ha observado en ovejas que existe una población de bacterias ácido-tolerantes de 10^6 cel/g de digesta que son capaces de consumir el almidón y azúcares simples (Kreikemeier *et al.*, 1991). Otra posibilidad para explicar esta situación, se relaciona con la capacidad efectiva de hidrólisis del

almidón por la α -amilasa pancreática la cual se ha observado que disminuye con infusiones de almidón en intestino delgado (Harmon, 1993).

Recientemente Swanson *et al.* (2002) al medir la influencia que ejercen los carbohidratos sobre la secreción de enzimas pancreáticas en toretes de carne, encontraron que tanto infusiones abomasales de glucosa como de almidón incrementaron la secreción de jugo pancreático, aunque la secreción así como la actividad de la α -amilasa pancreática se redujo. En el presente experimento, no se encontraron diferencias en la concentración de glucosa sanguínea entre los grupos que consumieron trigo y el que consumió salvado de trigo a pesar de que en estos últimos se redujo el flujo de almidón a duodeno. Lo anterior, podría indicar una limitante en la absorción o el transporte de la glucosa a sangre, en los grupos con mayor flujo de almidón a duodeno, atribuible a una falta de adaptación del mecanismo de transporte de glucosa en intestino delgado para hacer frente a una mayor demanda. En ese sentido Bauer *et al.* (1995) al estudiar la respuesta de adaptación al consumo de almidón en vacas y borregas mediante la capacidad intestinal para absorber/transportar glucosa en intestino delgado y cambios en el metabolismo esplénico (tomado este como el resto de las vísceras e incluido hígado), en respuesta a una adaptación a la asimilación del almidón, encontraron que las vacas responden con un incremento en la liberación de glucosa en tejido esplénico mientras que en ovejas esto no ocurre así, en vacas se incrementó la cantidad de glucosa liberada en el hígado, mientras que en las ovejas no se incrementó la liberación de glucosa en hígado pero sí el uso de glucosa visceral. Otro aspecto que puede influenciar el transporte intestinal de glucosa es la entrada

de pentosas y hexosas al intestino delgado provenientes del desdoblamiento de la hemicelulosa del forraje, Scharrer y Grenacher, (2000) al medir la absorción de pentosas y hexosas por el transportador intestinal de glucosa dependiente de Na, encontraron que aunque algunos de estos azúcares como (D-ribosa, D-manosa, L-arabinosa y D-xilosa) tienen una baja afinidad por este transportador pueden estar presente en cantidades elevadas como consecuencia del consumo de forrajes, pueden competir con la glucosa derivada de la digestión de almidón Peña *et al.* (2002) por dicho transportador.

7.4- Conclusión

El emplear sebo saponificado con sales de calcio y formaldehído sobre el grano de trigo rolado no modificó el flujo de almidón a duodeno, lo que no comprueba la efectividad de estos para proteger el almidón de la degradabilidad ruminal, tampoco se modificó la concentración de glucosa e insulina periférica. Sin embargo, no se observaron diferencias en la glucosa sanguínea con la dieta elaborada con el salvado de trigo, lo cual indica que el tomar sangre periférica para este tipo de estudio no es lo más adecuado siendo preferible tomar muestras de sangre portal, aunque una posible limitante es la absorción de glucosa por el epitelio intestinal o su transporte a sangre.

8- Literatura citada

- 1- Aguirre M. S. Efecto del tratamiento de sorgo y maíz con formaldehído sobre la digestibilidad del almidón en el rumen (Tesis Licenciatura FMVZ) México D. F. Universidad Autónoma de México 1994.
- 2- Axe, D. E., K. K. Blosen, D. L. Harmon, R. W. Lee, G. A. Milliken and T. B. Avery. Effect of wheat and high-moisture sorghum grain fed singly and in combination on ruminal fermentation, solid and liquid flow, site and extent of digestion and feeding performance of cattle. *J. Anim. Sci.* 1987 (64): 897-905.
- 3- Ayala O. J., J. M. R. Pinos, J. G. P. Sabos y P. S. P. Salina. Perfil metabólico sanguíneo de vacas lecheras alimentadas con dietas conteniendo lasalocida y cultivos de levadura. *Invest. Agr. Prod. Sanid. Anim.* 2001 (16): 143-152.
- 4- Basurto G. R. y F. J de D Garza. Efecto de la inclusión de grasa o proteína de escape ruminal en el comportamiento de toretes Brahman en engorda. *Téc. Pecu. Méx.* 1998 (36): 35-47.
- 5- Bauer M. L., D. L. Harmon, K. R. McLeod and G. B. Huntington. Adaptation to small intestine starch assimilation and glucose transport in ruminants. *J. Anim. Sci.* 1995 (73): 1828-1838.
- 6- Bauer M. L., D. L. Harmon, D. W. Bohnert, A. F. Braco and G. B. Hunntington. Influence of α -linked glucose on sodium-glucose cotransport activity a long the small intestine in cattle. *J. Anim. Sci.* 2001 (79): 1917-1924.
- 7- Bauman D. E., and W. B. Currie. Partition of nutrients during pregnancy and lactation: A review of mechanisms involving homeostasis and homeirhesis. *J. Dairy, Sci.* 1980 (63): 1514-1526.

- 8- Beauchemin K. A., T. A. McAllister, Y. Dong, B. I. Farr and K. J. Cheng. Effect of mastication on digestion of whole cereal grains by cattle. *J. Anim. Sci.* 1994 (72): 236-246.
- 9- Bernard J. K., S. A. Martin and T. C. Wedegaertner. *In vitro* mixed ruminal microorganism fermentation of whole cottonseed coated with gelatinized corn starch and urea. *J. Dairy Sci.* 2001 (84): 154-158.
- 10- Brent Theuerer C. Grain processing on starch utilization by ruminants. *J. Anim. Sci.* 1986 (63): 1649-1662.
- 11-Bernotorp K. Relation between plasma insulin and blood glucose in a cross-sectional population study of oral glucose tolerance test. *Acta Endocrinol.* 1983 (102): 549-556.
- 12- Bird A. R., W. J. Croom Jr., Y. K. Fan, B. L. Black, B. W. McBride and I. L. Taylor. Peptide regulation of intestinal glucose absorption. *J. Anim. Sci.* 1996 (74): 2523-2540.
- 13- Boss D. L. and J. G. P. Bowman. Barley varieties for finishing steers: II. Ruminal characteristics and rate, site, and extent of digestion. *J Anim. Sci.* 1996 (74):1973-1980.
- 14- Branco A. F., D. L. Harmon, D. W. Bohnert, B. T. Larson and M. L. Bauer. Estimating true digestibility of nonstructural carbohydrates in the small intestine of steers. *J. Anim. Sci.* 1999 (77): 1889-1895.
- 15- Camello A. P. Hormonas gastrointestinales. En: *Fisiología Veterinaria* 1er. ed. España interamericana McGraw-Hill; 1995: 739-747.
- 16- Caraway W T. Carbohydrates. In *fundamentals of clinical chemistry*. NW Tietz, editor, Saunders, Philadelphia, 1976. pp 234-263.

- 17- Castellanos R. A., L. G. Llamas y A. S. Shimada. Manual de técnicas de investigación en ruminología. México 1990 pp 95-111.
- 18- Chittenden L. W., D. D. Johnson, G. E. Mitchell Jr. and R. E. Trucker. Ovine pancreatic amylase response to form of carbohydrate. *Nutr. Rep. Int.* 1984 (29): 1051-1059.
- 19- Chui-Byungryul, D. L. Palmquist and B. R. Choi. High fat diets increase plasma cholecystinin and pancreatic polypeptide and decrease plasma insulin and feed intake in lactating cows. *J. Nutr.* 1996 (126): 2913-2929.
- 20- Church D. C. El rumiante, Fisiología digestiva y nutrición 1er. ed. España Acribia: 1988: 305-339.
- 21- Coleman G. S. The amylase activity of 14 species of entodinimorphid protozoa and the distribution of amylase in rumen digest fractions of sheep containing no protozoa or one of seven different protozoa populations. *J Agric. Sci. Camb* 1986 (170): 709-721.
- 22- Coppock C. E., and D. L. Wilks. Supplemental fat in high-energy rations for lactating cows: Effects on intake, digestion, milk yield and composition. *J. Anim. Sci.* 1991 (69): 3826-3837.
- 23- Croom Jr. W.J., B. McBride, A. R. Bird, Y. Fan, J. Olde, M. Froetschel and I. L. Taylor. Regulation of intestinal glucose absorption: a new issue in animal science. *Can. J. Anim. Sci.* 1998 (78): 1-13.
- 24- Erickson P. S., M. R. Murphy and J. H. Clark. Supplementation of dairy cows diet with calcium salt of long-chain fatty acids and nicotinic acid in early lactation. *J. Dairy Sci.* 1992 (75): 1078-1089

- 25- Espinoza J. L., J. A. Ramírez-Godínez, S. S. Simental, J. Jiménez, R. Ramírez, A. Palacios and R. de Luna. Effects of soaps of fatty acids on serum hormones and lipid metabolites in pelibuey ewes. *Small Ruminant Research* 1997 (269): 61-68.
- 26- Espinosa O. G. y Mark E.E. Breve recopilación de anatomía de semillas (1998) colegio de Posgraduados Montecillo México.
- 27- Fluharty F. L. and S. C. Loerch. Chemical treatment of ground corn to limit starch digestion. *Can. J. Anim. Sci.* 1989 (69): 173-180.
- 28- Fujita T., M. Kajita, H. Sano and A. Shiga. Effects of supplemental energy as starch on tissue responsiveness and sensitivity to insulin in goats. *Anim. Sci. J.* 2000 (4) 386-392.
- 29- Grummer R. R. and D. J. Carroll. Effects of dietary fat on metabolic disorders and reproductive performance of dairy cattle. *J. Anim. Sci.* 1991 (699): 3838-3852.
- 30- Harmon D. L. Impact of nutrition on pancreatic exocrine and endocrine secretion in ruminants. A review. *J. Anim. Sci.* 1992 (70): 1290-1301.
- 31- Harmon D. L. Nutritional regulation of postruminal digestive enzymes in ruminants. *J. Dairy Sci.* 1993 (76): 2102-2111.
- 32- Harmon D. L. Avances recientes en nutrición y alimentación de bovinos alimentados con dietas altas en concentrados reunión anual AMENA 1998 71-95.
- 33- Harouna A. M. and D. J. Schingoethe. Optimizing the utilization of animal fat and ruminal bypass protein in the diets of lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 1997 (80): 343-352.
- 34- Herrera-Saldaña R. and J. T. Huber. Influence of varying protein and starch degradability on performance of lactating cows. *J. Dairy Sci.* 1989 (72): 1477-1483.

- 35- Herrera-Saldaña R., J. T. Huber and M. H. Poer. Dry matter, crude protein and starch degradability of five cereal grain. *J. Dairy Sci.* 1990 (73): 2386-2393.
- 36- Hill G. M. and J. W. West. Rumen protected fat in kline barley or corn diet for beef cattle: Digestibility, physiological and feedlot responses. *J. Anim. Sci.* 1991 (69): 3376-3388.
- 37- Huntington G. B. and L. J. Reynolds. Net absorption of glucose, L-lactate, Volatile fatty acids and nitrogenous compounds by bovine given abomasal infusion of starch or glucose. *J. Dairy Sci.* 1986 (69): 2428-2436.
- 38- Huntington G. B. Starch utilization by ruminants: from basic to the bunk. *J. Anim. Sci.* 1997 (75): 852-867.
- 39- Jenkins T. C. and D. L. Palmquist. Effect of added fat and calcium on in vitro formation of insoluble fatty acid soap and cell wall digestibility. *J. Anim. Sci.* 1894 (55):957-963.
- 40- Jenkins T. C. Lipid metabolism in the rumen *J. Dairy Sci.* 1993 (76): 3851-3863.
- 41- Johnson D. D., G. E. Mitchell, Jr., R. E. Toker and R. B. Muntifering. Pancreatic amylase, plasma glucose and insulin responses to propionate or monensin in sheep *J. Dairy Sci.* 1986 (69): 52-61.
- 42- Klusmeyer T. H., G. L. Lynch and J. H. Clark. Effects of calcium salts of fatty acids and proportion of forage in diet on ruminal fermentation on flow to duodenum of cows. *J. Dairy Sci.* 1991 (74) 2220-2232.
- 43- Knowlton K. F., T. E. Dawson, B. P. Glenn, G. B. Huntington and R. A. Erdman. Glucose metabolism and milk yield of cows infused abomasally or ruminally with starch. *J. Dairy Sci.* 1998 (81): 3248-3258.

- 44- Komarek R. J. Rumen and abomasal cannulation of sheep with specially designed cannulas and a cannula insertion instrument. *J. Anim. Sci.* 1981 (53): 790-795.
- 45- Kowalski Z. M. Rumen fermentation, nutrient flow to the duodenum and digestibility in bull fed calcium soap of repressed fatty acids and soya bean meal coated with calcium soap. *Anim. Feed Sci. Technol.* 1997 (69): 289-303.
- 46- Kreikemeier K. K., D. L. Harmon, R. T. Brandt, T. B. Avery and D. E. Johnson. Small intestinal starch digestion in steers: effect of various levels of abomasal glucose, corn starch and corn dextrin infusion on small intestinal disappearance and net glucose absorption. *J. Anim. Sci.* 1991 (69): 328-338.
- 47- Lehninger L. A. *Bioquímica*, 2ª ed. Omega, decimoctava reimpresión 1995. p.p. 255-281.
- 48- Mathison G. W. Effects of processing on the utilization of grain by cattle. *Anim. Feed Sci. Technol.* 1996 (589): 113-125.
- 49- Maynard A. L., K. J. Loosli, F. H. Hinstz and G. R. Warner *Nutrición animal* 4a ed. McGraw-Hill México 1981 pp 109-143.
- 50- McAllister, T. A., L. M. Rode, D. J. Cheg and J. G. Buchanan-Smith. Effect of ruminal microbial colonization on cereal grain digestion. *Can. J. Anim. Sci.* 1990a (70): 571-579.
- 51- McAllister T. A., K. J. Cheng, L. M. Rode, and J. G. Buchanan-Smith. Use of formaldehyde to regulate digestion of barley starch. *Can. J. Anim. Sci.* 1990b (70): 581-589.

- 52- McAllister T. A., L. M. Rode, K. J. Cheng, and J. G. Buchanan-Smith. Effect of formaldehyde-treated barley or escape protein on the ruminal environment and digestion in steers. *Can. J. Anim. Sci.* 1992 (72): 317-328.
- 53- McAllister T. A., R. C. Phillippe, L. M. Rode and K. J. Cheng. Effect of the protein matrix on the digestion of cereal grains by ruminal microorganisms. *J Anim. Sci.* 1993 (75): 205-212.
- 54- Mendoza G. D. y V. R. Ricalde. Alimentación de ganado bovino con dietas altas en granos. Universidad autónoma Metropolitana Xochimilco, México 1993 pp 9-35.
- 55- Mendoza G. D., R. A. Britton and R. A. Stock. Influence of ruminal protozoa on site and extent of starch digestion an ruminal fermentation. *J. Anim. Sci.* 1993 (71): 1572-1578.
- 56- Mendoza G. D., M. E. Ortega C., V. R. Ricalde y G. J. A. Martínez. Modelos matemáticos para evaluar la tasa de digestión *in vitro* del almidón. *Téc. Pecu. Méx.* 2000 (38): 51-56.
- 57- Nocek J. E. and S. Tamminga. Site of digestion of starch in the gastrointestinal tract of dairy cows and its effect on milk yield and composition. *J. Dairy Sci.* 1991 (74): 3598-3624.
- 58- Nordin M. and R. Campling. Digestibility studies with cows given whole and rolled cereal grain *Anim. Prod.* 1976 (23). 305-313.
- 59- NRC. Nutrient Requirements of Sheep (6th ed.). National Academy Press. Washington, D. C. 1985. pp 45-50.
- 60- NRC. Nutrient requirements of Beef cattle (7th ed.). National Academy Press. Washington, D. C. 1995. pp 191-213.

- 61- Ohajuruka O. A., W. Zhiguo and D. L. Palmquist. Ruminant metabolism, fiber and protein digestion by lactating fed calcium soap or animal-vegetable fat. *J. Dairy Sci.* 1991 (74): 2601-2609.
- 62- Oke B. O., S. C. Loerch and D. R. Redman. Effect of dietary level and formaldehyde treatment of corn on nutrient digestion and metabolism in sheep. *Can. J. Anim. Sci.* 1991 (71): 1197-1205.
- 63- Ortega M^aE., G. D. Mendoza, S. Aguirre y M^aE Carrasco. Tratamiento con formaldehído de maíz y sorgo, efecto sobre degradabilidad ruminal de la materia seca, almidón y proteína bruta. *Invest. Agric.: Prod. Sand. Anim.* 1998 (13): 14-19.
- 64- Orskov E. R. Starch digestion and utilization in ruminants. *J. Anim. Sci.* 1986 (63) 1629-1633.
- 65- Owens F. N., R. A. Zinn and Y. K. Kim. Limits to starch digestion in the ruminant small intestine. *J. Anim. Sci.* 1986 (63): 1634-1648.
- 66- Owens F. N., D. S. Secrist, W. Jeffhill and D. R. Will. The effect of grain source and grain processing on performance of feedlot cattle: A review. *J. Anim. Sci.* 1997 (75): 868-879.
- 67- Pastrana M. X., Vera H. R. A., López J., González P. E., Mendoza M. G. D., Ramírez S. M., Peña A. D. y Villagómes A. E. Efecto de periodos cortos de suministro de trigos protegidos de la degradabilidad ruminal sobre el desarrollo folicular y tasa ovulatoria en cabras XXXVIII Reunión Nacional de Investigación Pecuaria. 2002 pp 52 (resumen).
- 68- Peña A. D. G., Vera A. H. R., López J., González P. E., Mendoza M. G. D., Pastrana M. X. y Ramírez S. M. Suplementación con cereales protegidos de la degradabilidad ruminal en ovinos pelibuey: 1) Efecto sobre la actividad ovárica

posparto. XXXVIII Reunión Nacional de Investigación Pecuaria. 2002 pp 56 (resumen).

69- Pérez Alba L. M., S. De Souza Calvalcanti, M. Pérez Hernández, A. Martínez Marin and G. Fernández Marin. Calcium soap of olive fatty acids in the diet of Manchega dairy ewes: Effects on digestibility and production. J. Dairy Sci. 1997 (809): 3316-3324.

70- Rivera B. J. Manual de Técnicas Bioquímicas México D.F. 1980 pp 67-75.

71- Robles S. R. Producción de granos y forrajes 5ª ed. UTEHA Noriega Eds. México. 1990 pp 24-30.

72- Rooney L. W. and R. L. Pflugfelder. Factors affecting starch digestibility with special emphasis on sorghum and corn. J. Anim. Sci. 1986 (63): 1607-1623.

73- SAS. SAS User's Guide: Statistics (version 5 ed.). Cary NC. SAS inst. Inc. 1985.

74- Sano H., H. Arai, A. Takahashi, H. Takahashi and Y. Terashima. Insulin and glucagon response to intravenous injection of glucose, arginine and propionate in lactating cows and growing calves. Can. J. Anim. Sci. 1999 (79): 309-314.

75- Schade D S, Eaton R P, and Spencer W. Normalization of plasma insulin profiles in diabetic subjects with programmed insulin delivery. Diabetes Care 1980 (3): 9-14.

76- Scharrer E. and B. Grenacher. Na⁺-Dependent Transport of D-Xylose by Bovine Intestinal Brush Border Membrane Vesicles (BBMV) is Inhibited by Various Pentoses and Hexoses. J. Vet. Med. A. 2000 (47): 617-626.

- 77- Shell L. A., F. D. Dryden, A. Mata-Hernandez and W. H. Hale. Protein protected fat for ruminants: III Digestion and performance of lambs. J. Anim. Sci. 1978 (46): 1332-1337.
- 78- Shirazi-Beechey S. P., B. A. Hirayama, Y. Wang, D. Scott, M. W. Smith and E. M. Wringht. Ontogenic development of lamb intestinal sodium-glucose co-transporter is regulated by diet. J. Physiology 1991 (4379): 694-708.
- 79- Sukhija P. S. And D. L. Palmquist. Dissociation of calcium soap of long-chain fatty acids in rumen fluid. J. Dairy Sci. 1990 (73). 1784-1787.
- 80- Swanson K. C., J. C. Matthewes, A. D. Howell, C.J. Richards and D. L. Harmon. Dietary carbohydrate source and energy intake influence the expression of pancreatic α -amilase in lamb. J. Nutri. 2000 (130): 2157-2165.
- 81- Swanson K. C., C. J. Richards and D. L. Harmon. Influence of abomasal infusion of glucose or partially hydrolyzed starch on pancreatic exocrine secretion in beef steers. J. Anim. Sci. 2002 (809): 1112-1116.
- 82- Teh T. H., L. T. Trong, Z. H. Jia and T. A. Gipson. Varying amounts of rumen-inert fat for high producing goats in early lactation. J. Dairy Sci. 1994 (77). 253-258.
- 83- Tilley J. M. A. and R. A. Terry. A two stage technique for the *in vitro* digestion of forage crops. J. Br. Grass. Soc. 1963 (18): 104
- 84- Torres A. Utilización de ácidos saponificados en alimentación de borregas en el último tercio de gestación (Tesis Licenciatura FMVZ) México D. F. Universidad Autónoma de México 1992.
- 85- Trinder P. Determination of glucose in blood using glucose oxidase with an alternative oxygen acceptor. Ann. Clin. Biochem. 1969 (6): 24-31.

- 86- Umunna N. N., I. V. Nsahlai, and P. O. Osuji. Degradability of forage protein supplements and effects on the kinetics of digestion and passage. *Small Rum. Res.* 1995 (179): 145-152.
- 87- Villagómez A. E., M. J. Zárate, M H. Arellano, H. V. D. Hernández y S. L. E. Zapata. Efecto de la inclusión de grasas saponificadas a sales de calcio en la dieta sobre el anestro posparto y la función tiroidea de vacas cebú. Décima cuarta Reunión Científica. Tecnológica, Forestal y Agropecuaria. Veracruz 2001. pp 21-28.
- 88- Walker J. A. and D. L. Harmon. Influence of ruminal or abomasal starch hydrolysate infusion on pancreatic exocrine secretion and blood glucose and insulin concentrations in steers. *J. Anim. Sci.* 1995 (73): 3766-3774.
- 89- Wester T. J., S. M. Gramlich, R. A. Britton and R. A. Stock. Effect of grain sorghum hybrid on *in vitro* rate of starch disappearance on finishing performance of ruminants. *J. Anim. Sci.* 1992 (70): 2866-2876.
- 90- Yufera E. P. y J. M. Carrasco. Productos del campo y propiedades de los alimentos (técnica química y agroindustrial) 3er. Vol. Alhambra España 1980.
- 91- Zinn R. A. and R. Barajas. Comparative ruminal and total tract digestion of finishing diet containing fresh vs air-dry steam-flaked corn. *J. Anim. Sci.* 1997 (75): 1704-1707.