



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO**

---

---

MAESTRIA EN CIENCIAS DE LA PRODUCCION  
Y DE LA SALUD ANIMAL

**EFFECTO DE LA RECONSTITUCIÓN, GERMINACIÓN Y ENSILAJE EN LA  
ABSORCIÓN DE AGUA Y LAS FRACCIONES DE PROTEÍNA DEL GRANO  
DE SORGO**

**T E S I S**  
QUE PARA OBTENER EL GRADO DE  
MAESTRO EN CIENCIAS

PRESENTA  
**MINELIA PINEDA SÁNCHEZ**

TUTOR PRINCIPAL: MC. Francisco Castrejón Pineda

COMITÉ TUTORAL: Dr. Luis Corona Gochi  
Dr. Fernando Xicoténcatl Plata Pérez



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.

## DEDICATORIAS

*A quien le debo todos los logros en mi vida. Gracias Dios por guiarme en todo momento y brindarme sabiduría y fortaleza para superar mis retos día a día.*

*A mis padres en quienes he encontrado amor, comprensión, confianza y apoyo que me han ayudado a salir adelante.*

*A mis hermanos, por ser parte de mi vida, y quienes me han apoyado cuando los he necesitado gracias por estar siempre conmigo.*

*A mis grandes angelitas Samantha y Sairi con quienes he crecido y compartido días de inmensa alegría.*

*A toda mi familia, gracias por compartir grandes momentos que han marcado mi vida.*

*A Hugo, por ser el motor que mueve mi mundo, gracias amor por apoyarme, cuidarme y enseñarme que todos los esfuerzos y sacrificios valen la pena.*

*Gracias Diana, Erika e Ivonne por su apoyo, cariño y comprensión con los cuales mi vida se ha enriquecido y a mis amigas (os) con quienes he compartido grandes momentos.*

## AGRADECIMIENTOS

*A la Universidad Nacional Autónoma de México, la mejor universidad del país en donde mi formación desde el bachillerato me ha permitido prepararme como una persona con valores y profesionalismo.*

*A la Dirección General del Personal Académico (DGAPA) de la UNAM quienes mediante el proyecto PAPIIT IN 206006 “Evaluación del proceso de reconstitución y ensilaje sobre el valor alimenticio de sorgo grano [Sorghum bicolor L. Moench] en dietas de finalización para bovinos y ovinos” brindaron su apoyo para la realización de este trabajo.*

*A la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia en donde pude realizar todas mis actividades de aprendizaje de esta gran carrera.*

*A todo el departamento de Nutrición Animal y Bioquímica.*

*Gracias Fermina por ser un gran ejemplo de vida y profesionalismo además de enseñarme y ayudarme en mi formación.*

*Gracias Águeda por apoyarme en todo lo necesario para la realización de mi trabajo.*

*Gracias a todos aquellos que han estado en mi vida compartiendo grandes momentos que estarán conmigo siempre.*

*“Si se siembra la semilla con fé y se cuida con perseverancia,  
Solo será cuestión de tiempo recoger sus frutos”  
Thomas Carlyle.*

## RESUMEN

Para evaluar el efecto de un agente surfactante y de la temperatura del agua en el contenido de humedad absorbido (**HUM**) del grano de sorgo durante la reconstitución, se realizaron tres experimentos (**Exp**) con diseño completamente al azar en arreglo factorial y cuatro repeticiones por tratamiento. Las unidades experimentales fueron frascos de vidrio de 50 mL, conteniendo 10 g de grano de sorgo entero. El contenido de HUM se determinó por deshidratación en horno a 55 °C. Exp 1: 4 dosis de surfactante (**DS**= 0, 0.09, 0.145 y 0.162 mL kg<sup>-1</sup>) x 4 tiempos de hidratación (**TH**), utilizando agua a 25°C (2, 4, 6 y 8 h). Exp 2: 5 TH (2, 4, 6, 8 y 10 h) x 3 temperaturas de agua (**TA**= 2, 36 y 70 °C) x 2 efectos térmicos: temperatura del agua al inicio (**TI**) o constante (**TC**) x 4 DS (0, 0.145, 0.290 y 0.435 mL kg<sup>-1</sup>). Exp 3: 5 TH (0.5, 1, 1.5, 2 y 2.5 h) x 1 TA constante (70 °C) x 2 DS (0 y 0.290 mL kg<sup>-1</sup>). Exp 1: el mayor HUM (26.08 %) se obtuvo a las 6 h (P<0.01). Exp 2: con *TI*, las interacciones DS x TH y TH x TA fueron significativas (P<0.01), observándose los mayores HUM a las 6, 8 ó 10 h de hidratación con las diferentes DS, alcanzando una reconstitución promedio de 27.6 %. Con *TC*, la triple interacción resultó significativa (P<0.01): el mayor HUM se registró a las 8 h con 70 °C y DS=0.290 mL kg<sup>-1</sup>. Resultados estadísticamente no diferentes se observaron sin surfactante, a 70 °C de agua y 6 h de hidratación. Exp 3: se encontró mayor HUM (33.71 %, P<0.01) con DS= 0 en el mayor TH (2.5 h). Se realizaron otro dos experimentos (completamente al azar en arreglo factorial, con 4 repeticiones por tratamiento; unidad experimental = microsilos en frascos de plástico de 1.1 Kg para evaluar el efecto de la reconstitución y ensilaje (Exp 4) o germinación y ensilaje (Exp 5) en la composición de fracciones de la proteína en el ensilado de grano de sorgo. Exp 4: 2 tamaños de partícula, entero (**GE**) o quebrado (**GQ**), x 3 niveles de reconstitución (**R**= 25, 30 y 35 HUM) x 3 tiempos de ensilaje (**TE**= 0, 21 y 42 **días (d)**). Exp 5: 4 tiempos de germinación (**TG**= 0, 2, 4 y 6 d) x 3 TE (21, 42 y 63 d). Las variables de respuesta fueron: **FDN**, **FDA**, proteína cruda (**PC**) y la fracciones (**fc**) de proteína (**A**, **B1**, **B2**, **B3** y **C**), determinadas según el sistema CNCPS. Los resultados en el Exp 4 fueron los

siguientes: **FDN**: las interacciones tamaño de partícula x HUM y HUM x TE fueron significativas ( $P < 0.01$ ); la mayor concentración (6.67 %) se registró en GQ, con R= 25 HUM y sin ensilaje. **FDA**: la triple interacción fue significativa ( $P < 0.01$ ), obteniéndose la mayor concentración (3.55 %) en GQ con R= 30 HUM y sin ensilaje. **PC**: se observó triple interacción significativa ( $P < 0.05$ ); la mayor concentración (9.01 %) correspondió a GQ con R= 35 HUM y sin ensilaje. **Fc**: la triple interacción fue significativa ( $P < 0.05$ ) en todas las fracciones. Las mayores concentraciones se encontraron en: **A**, 19.33 % (como total de PC) en GQ con R= 35 HUM y 42 d de TE; **B1**, 5.78 % en GQ con R= 30 HUM y 42 d de TE; **B2**, 89.46 % en GQ con R= 35 HUM y sin ensilaje; **B3**, 2.09 %, y **C**, 2.92 %, en GE con R= 25 HUM y 21d de TE y 35 HUM, sin ensilaje, respectivamente. Los resultados en el Exp 5 fueron los siguientes: **FDN**: TE fue significativo ( $P < 0.05$ ); el promedio fue de 5.38 %. Para **FDA** y **PC** la interacción TG x TE fue significativa ( $P < 0.05$ ), obteniéndose los mayores valores (3.54 % de FDA y 11.09 % de PC) con 6 d de TG y 21 d de TE. **Fc**: la triple interacción fue significativa ( $P < 0.05$ ) en todas las fracciones. Las mayores concentraciones se encontraron en: **A**, 39.34 % con 6 d de TG y 63 d de TE; **B1**, 4.82 % con 4 d de TG y 42 d de TE; **B2**, 76.67 % con 2 d de TG y 42 d de TE; **B3**, 4.57 % con 6 d de TG y 21 d de TE, y **C**, 2.88 % sin germinación y con 42 d de TE.

Se logró una reconstitución (<28 %) sin la adición de surfactante con 6 h de hidratación a temperatura ambiente. El proceso de reconstitución aumentó las fracciones B1 y B2, aumentando la concentración de proteína verdadera; la germinación incrementó la fracción A, por lo tanto aumentó la concentración de NNP; el aumento de la fracción B3 obtenida con la germinación podría ser utilizada por el rumiante como proteína de sobrepaso. La fracción C fue similar en Exp 4 y 5, como las concentraciones fueron bajas, este resultado es favorable, ya que se trata de proteína no disponible.

## ABSTRACT

In order to evaluate the effect of a surfactant agent and water temperature on the absorbed humidity content (**HUM**) of sorghum grain during the reconstitution process, three experiments (**Exp**) in a completely randomized experimental design with factorial arrangement and four repetitions per treatment were followed. Experimental units were 50 mL glass containers in which 10 g whole grain sorghum were included. HUM was determined in an oven at 55 °C. Exp 1: 4 level of surfactant (**LS** = 0, 0.09, 0.145 and 0.162 mL kg<sup>-1</sup>) x 4 hydration times (**HT**), using water at 25°C (2, 4, 6 and 8 hours (**h**)). Exp 2: 5 **HT** (2, 4, 6, 8 and 10 h) x 3 water temperatures (**WT** = 2, 36 and 70 °C) x 2 thermal effects: water temperature only at the beginning (**IT**) or constant (**CT**) x 4 **LS** (0, 0.145, 0.290 and 0.435 mL kg<sup>-1</sup>). Exp 3: 5 **HT** (0.5, 1, 1.5, 2 and 2.5 h) x 1 constant **WT** (70 °C) x 2 **LS** (0 and 0.290 mL kg<sup>-1</sup>).

Exp 1: the highest HUM (26.28%) was found at 6 hours (P<0.01). Exp 2: with *IT*, double interactions **DS** x **TH** and **TH** x **WT** were significant (P<0.01); the highest HUM was found at 6, 8 or 10 hours of hydration with different **LS** reaching an average of a 27.6% humidity content. With *CT* the triple interaction was significant (P<0.01): the highest HUM was recorded at 8 h with **CT**= 70°C and **LS**= 0.290 mL kg<sup>-1</sup>. Similar statistical results were observed without surfactant in water at 70°C and 6h of hydration. Higher HUM (33.71%, P<0.01) was found in Exp 3 with **LS**= 0 in the highest **WT** (2.5 h). Two more experiments were designed (completely at random in a factorial arrangement with 4 repetitions per treatment; experimental unit = 1.1 kg plastic microsilo in order to evaluate the effect of reconstitution and silage (**Exp 4**) or germination and silage (**Exp 5**) on the protein fraction composition in the sorghum grain silage. Exp 4: two particle sizes: whole (**WG**) or cracked (**CG**) x 3 reconstitution levels (**R**= 25, 30 and 35 **HUM**) x 3 silage times (**ST**= 0, 21 and 42 days (d)). Exp 5: 4 germination times (**GT**= 0, 2, 4 and 6 days) x 3 **ST** (21, 42 and 63 d). Variables included: neutral detergent fiber (**NDF**), acid detergent fiber (**ADF**) and protein fractions (**Pf**) composition (**A**, **B1**, **B2**, **B3** and **C**) determined by the CNCPS system.

Results in Exp 4 were as follows: NDF: double interactions in the particle size x HUM and HUM x ST were significant ( $P < 0.01$ ); the highest concentration (6.67 %) was recorded in CG with an R= 25 Hum % and without silage. ADF: the triple interaction was significant ( $P < 0.01$ ); the highest concentration (3.55 %) in CG with an R= 30 Hum % and without silage. CP: a triple interaction was significant ( $P < 0.02$ ); the highest concentration (9.01 %) corresponded to CG with R= 35 Hum % and without silage. **Pf**: the triple interaction ( $P < 0.05$ ) was significant in all fractions. The highest concentrations were found in: **A**, 19.33% (as total CP) in CG with R= 35 Hum % and 42 d of ST; **B1**, 5.78 % in CG with R= 30 HUM and 42 d of ST; **B2**, 89.46 % in CG with R= 35 HUM and without silage; **B3**, 2.09 %, and **C**, 2.92 %, in WG with R= 25 HUM and 21 d of ST and 35 HUM without silage, respectively. Results in Exp 5 were as follows: **NDF**: ST was significant ( $P < 0.05$ ); the average was 5.38 %. For **ADF** and **CP** the double interaction GT x ST was significant ( $P < 0.05$ ); obtaining the highest values (3.54 % of ADF and 11.09 % of CP) with 6 d of GT and 21 d of ST. **Pf**: the triple interaction was significant ( $P < 0.05$ ) in all the fractions. The highest concentrations were found in **A**, 39.34 % with 6 d of GT and 63 d of ST; **B1**, 4.82 % with 4 d of GT and 42 d of ST; **B2**, 76.67 % with 2 d of GT and 42 d de ST; **B3**, 4.57 % with 6 d of TG and 21 d of TE, and **C**, 2.88 % without germination and with 42 d of ST.

The reconstitution was achieved (>28 %) without the addition of surfactant with 6 h of hidration at room temperature. The reconstitution process increased B1 and B2 fractions, increasing true protein concentration; germination increased A fraction, therefore, the concentration of NPN was increased; the increase of the B3 fraction obtained with the germination could be used as by pass – protein so that it can be directly digested and absorbed by ruminants. C fraction was similar in both experiments, and as concentrations was low, this result is favorable and it means unavailable protein.

## CONTENIDO

	Página
RESUMEN	IV
ABSTRACT	VI
LISTA DE CUADROS	X
LISTA DE FIGURAS	XIV
LISTA DE ANEXOS	XV
INTRODUCCIÓN	
1. REVISIÓN DE LITERATURA	
1.1 Producción de grano de sorgo	3
1.2 Valor nutritivo del grano de sorgo	5
1.3 Composición físico – química de las estructuras del grano de sorgo	6
1.3.1 Pericarpio	7
1.3.2 Endospermo	8
1.3.3 Germen o embrión	9
1.4 Almidón	10
1.4.1 Amilosa	12
1.4.2 Amilopectina	12
1.5 Kafirinas	13
1.6 Fracciones de la proteína de acuerdo al sistema CNCPS	16
1.7 Métodos de tratamiento de granos	21
1.7.1 El proceso de reconstitución en el grano de sorgo	23
1.7.2 El uso de agente surfactantes en la reconstitución de grano de sorgo	23
1.7.3 Germinado de grano de sorgo	24
1.7.4 Proceso de ensilaje de grano de sorgo	27
JUSTIFICACIÓN	30
OBJETIVOS	31

HIPÓTESIS	32
2. MATERIAL Y MÉTODOS	33
3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	44
4. CONCLUSIONES	81
5. LITERATURA CITADA	83

## LISTA DE CUADROS

	Página
Cuadro 1. Principales estados productores de grano de sorgo (2007).	4
Cuadro 2. Contenido proteínico (PC), extracto etéreo (EE), fibra cruda (FC) y cenizas (CEN) del grano de sorgo.	7
Cuadro 3. Propiedades de las kafirinas.	14
Cuadro 4. Análisis de varianza por efecto de dosis de surfactante y tiempo de hidratación sobre el contenido de humedad (%) en grano de sorgo.	44
Cuadro 5. Efecto de dosis de surfactante y tiempo de hidratación sobre el contenido de humedad (%) en grano de sorgo.	45
Cuadro 6. Análisis de varianza para evaluar la hidratación del grano de sorgo por efecto de surfactante (Surf), tiempo de hidratación (Th) y temperatura inicial del agua (Ti).	46
Cuadro 7. Contenido de humedad (%) en el grano de sorgo por efecto de surfactante y tiempo de hidratación.	47
Cuadro 8. Efecto de la temperatura del agua y tiempo de hidratación (h) sobre el contenido de humedad (%) en el grano de sorgo.	47
Cuadro 9. Análisis de varianza para evaluar la hidratación del grano de sorgo por efecto de surfactante (Surf), tiempo de hidratación (Th) y temperatura constante del agua (Tc).	48
Cuadro 10. Contenido de humedad (%) en el grano de sorgo tratado con cuatro dosis de surfactante, cinco tiempos de hidratación y tres temperaturas constantes del agua.	50
Cuadro 11. Análisis de varianza para evaluar la hidratación del grano de sorgo por efecto de surfactante y tiempo de hidratación con temperatura constante del agua.	51
Cuadro 12. Efecto de la dosis de surfactante y tiempo de exposición al tratamiento en la hidratación del grano de sorgo.	51

Cuadro 13. Análisis de varianza para los efectos de tamaño de partícula (Tp), humedad (Hum) y tiempo de ensilaje (Te) sobre el contenido de FDN del grano de sorgo.	53
Cuadro 14. Contenido de FDN (%) en el grano de sorgo entero y quebrado con tres porcentajes de humedad.	53
Cuadro 15. Contenido de FDN (%) en el grano de sorgo entero y quebrado con diferente tiempo de ensilaje.	54
Cuadro 16. Contenido de FDN (%) en el grano de sorgo con tres niveles de humedad y tres tiempos de ensilaje.	55
Cuadro 17. Análisis de varianza para los efectos de tamaño de partícula (Tp), humedad (Hum) y tiempo de ensilaje (Te) sobre el contenido de en el FDA del grano de sorgo.	57
Cuadro 18. Contenido de FDA (%) en el grano de sorgo entero y quebrado con diferente humedad (Hum) y tiempo de ensilaje.	57
Cuadro 19. Análisis de varianza para los efectos de tamaño de partícula (Tp), humedad (Hum) y tiempo de ensilaje (Te) en el grano de sorgo.	59
Cuadro 20. Contenido de PC (%) del grano de sorgo con diferente tamaño de partícula, humedad y tiempo de ensilaje.	59
Cuadro 21. Análisis de varianza para los efectos de tamaño de partícula (Tp), humedad (Hum) y tiempo de ensilaje (Te) sobre el contenido de la fracción A del grano de sorgo.	60
Cuadro 22. Análisis de varianza para los efectos de tamaño de partícula (Tp), humedad (Hum) y tiempo de ensilaje (Te) sobre el contenido de la fracción B1 del grano de sorgo.	61
Cuadro 23. Análisis de varianza para los efectos de tamaño de partícula (Tp), humedad (Hum) y tiempo de ensilaje (Te) sobre el contenido de la fracción B2 del grano de sorgo.	61
Cuadro 24. Análisis de varianza para los efectos de tamaño de partícula (Tp), humedad (Hum) y tiempo de ensilaje (Te) sobre el contenido de la fracción B3 del grano de sorgo.	62

Cuadro 25. Análisis de varianza para los efectos de tamaño de partícula (Tp), humedad (Hum) y tiempo de ensilaje (Te) sobre el contenido de la fracción C del grano de sorgo.	62
Cuadro 26. Fracciones de la proteína (N x 6.25) de grano de sorgo entero y quebrado sometido a diferentes tratamientos de reconstitución y ensilaje.	63
Cuadro 27. Análisis de varianza para el efecto de tiempo de germinación y ensilaje en el contenido de FDN del grano de sorgo.	67
Cuadro 28. Contenido de FDN (%) en el grano de sorgo con diferente tiempo de germinación y ensilaje.	67
Cuadro 29. Análisis de varianza para el efecto de tiempo de germinación y ensilaje en el contenido de FDA del grano de sorgo.	68
Cuadro 30. Contenido de FDA (%) en el grano de sorgo con diferente tiempo de germinación y ensilaje.	68
Cuadro 31. Análisis de varianza para el efecto de tiempo de germinación y ensilaje en el contenido de PC del grano de sorgo.	70
Cuadro 32. Análisis de varianza para el efecto de tiempo de germinación y ensilaje en el contenido de la fracción A del grano de sorgo.	70
Cuadro 33. Análisis de varianza para el efecto de tiempo de germinación y ensilaje en el contenido de la fracción B1 del grano de sorgo.	70
Cuadro 34. Análisis de varianza para el efecto de tiempo de germinación y ensilaje en el contenido de la fracción B2 del grano de sorgo.	71
Cuadro 35. Análisis de varianza para el efecto de tiempo de germinación y ensilaje en el contenido de la fracción B3 del grano de sorgo.	71
Cuadro 36. Análisis de varianza para el efecto de tiempo de germinación y ensilaje en el contenido de la fracción C del grano de sorgo.	71
Cuadro 37. Contenido de PC (%) con diferente tiempo de germinación y ensilaje del grano de sorgo.	72
Cuadro 38. Análisis de correlación para las fracciones de proteína con diferente tiempo de germinación y ensilaje en el grano de sorgo.	73

Cuadro 39. Fracciones de la proteína (N x 6.25) de grano de sorgo  
sometido a diferentes tratamientos de germinación y ensilaje.

75

## LISTA DE FIGURAS

	Página
Figura 1. Países con mayor producción de grano de sorgo (millones de toneladas, 2006 / 2007)	3
Figura 2. Estructuras del grano de sorgo.	10
Figura 3. Microfotografía de los gránulos de almidón rodeados de los cuerpos proteínicos del sorgo.	12
Figura 4. Fracciones de la proteína según el sistema CNCPS.	20
Figura 5. Entrada y movimiento de agua en el grano de sorgo.	22
Figura 6. Contenido de FDN (%) en el grano de sorgo por efecto de tamaño de partícula y humedad.	54
Figura 7. Contenido de FDN (%) en el grano de sorgo por efecto del tamaño de partícula y tiempo de ensilaje.	55
Figura 8. Contenido de FDN (%) en el grano de sorgo por diferente nivel de humedad y tiempo de ensilaje.	56
Figura 9. Contenido de FDA (%) con diferentes tiempos de ensilaje y de germinación del grano de sorgo.	68
Figura 10. Contenido de PC (%) con diferente tiempo de germinación y ensilaje del grano de sorgo.	72
Figura 11. Contenido de la fracción A (%) en el grano de sorgo por efecto del tiempo de germinación y ensilaje.	74
Figura 12. Contenido de la fracción B1 (%) en el grano de sorgo por efecto del tiempo de germinación y ensilaje.	76
Figura 13. Contenido de la fracción B2 (%) en el grano de sorgo por efecto del tiempo de germinación y ensilaje.	77
Figura 14. Contenido de la fracción B3 (%) en el grano de sorgo por efecto del tiempo de germinación y ensilaje.	78
Figura 15. Contenido de la fracción C (%) en el grano de sorgo por efecto del tiempo de germinación y ensilaje.	79

## ANEXOS

### 1. TÉCNICAS UTILIZADAS PARA LA DETERMINACIÓN DE LAS FRACCIONES DE PROTEÍNA

	Página
1.1 Determinación de proteína cruda (Método Kjeldahl) en el Laboratorio de Bromatología del Departamento de Nutrición Animal y Bioquímica (DNAB).	90
1.2 Determinación de nitrógeno insoluble (N ins) en el Laboratorio de Bromatología del DNAB. (Fracciones B2 y B3)	96
1.3 Determinación de nitrógeno soluble verdadero (NSV) en el Laboratorio de Bromatología del DNAB. (Fracciones A y B1)	99
1.4 Técnica utilizada por el Dr. Weizhong Chai para la determinación de fibra detergente neutro (FDN). (Fracciones B2 y B3)	101
1.5 Técnica modificada del Dr. Weizhong Chai para la determinación de fibra detergente ácido (FDA). (Fracciones B3 y C)	104

## INTRODUCCION

México es uno de los países con mayor producción de sorgo (*Sorghum bicolor* L. Moench) en el mundo<sup>1</sup>, el cual se utiliza en la elaboración de alimentos balanceados para consumo animal; sin embargo, para que pueda ser aprovechado eficientemente por los animales tiene que ser procesado, ya que la velocidad de digestión del almidón proveniente de este grano es lenta a nivel ruminal. La composición química del grano sugiere que la proteína es menos digestible en el sorgo que en otros cereales.<sup>2</sup>

La proteína es un nutrimento que tiene gran importancia en la digestibilidad del almidón, ya que éste se encuentra embebido en una matriz proteínica. Las kafirinas (prolaminas) son las fracciones de proteína más abundantes y representan del 70 al 80 % del total del endospermo. Además existen factores exógenos (interacciones con componentes no proteínicos como polifenoles, almidón, polisacáridos no amiláceos, fitatos y lípidos) y factores endógenos (factores propios del grano), que pueden afectar directamente la digestibilidad del almidón.<sup>3</sup> La proteína del endospermo existe como matriz continua y en forma de cuerpos proteínicos embebidos en esta matriz, los cuales son particularmente altos en prolina y ácido glutámico.<sup>4</sup>

Hasta hace poco, el valor estimado de proteína aportada por los alimentos para rumiantes se expresó como proteína cruda y digestible. Esto fue suficiente en el balanceo de dietas para animales con una producción moderada. Cuando surgió la necesidad de utilizar con mayor eficiencia el potencial productivo de los rumiantes, se hizo necesario conocer, estimar y cuantificar la degradación de la proteína dentro del sistema digestivo de estas especies. Así, la investigación condujo al fraccionamiento de la proteína con base en su solubilidad y degradabilidad. Se obtuvieron diferentes fracciones en el alimento, de acuerdo a la degradación ruminal o escape de la proteína consumida hacia la digestión intestinal o hacia la excreción fecal.<sup>5</sup>

La proteína contenida en los alimentos puede clasificarse en tres fracciones:

- Fracción A: la cual es rápidamente utilizada en el rumen.
- Fracción B: representa la porción lentamente degradable, se conoce como proteína verdadera y a su vez se clasifica de acuerdo con los grados de degradación ruminal: fracción B1, rápidamente degradada en rumen; fracción B2, degradada parcialmente tanto en el rumen como en el intestino delgado y contiene proteína verdadera potencialmente degradable; fracción B3, degradada lentamente en el rumen, asociada a paredes celulares y cuantificada como proteína de sobrepaso.
- Fracción C corresponde a proteína insoluble.<sup>5</sup>

Existen tratamientos utilizados para mejorar la digestibilidad de los granos enteros, entre los que se encuentran: la utilización de agentes surfactantes o temperizantes, la reconstitución y la germinación. Los agentes surfactantes se aplican en el momento de la reconstitución a altas temperaturas, incrementando la absorción de humedad en los granos. Este tratamiento se utiliza en los procesos de hojueado al vapor y rolado en húmedo. El proceso de ensilaje permite conservar el alimento para tiempos de escasez con mínimas pérdidas nutricias. Al utilizar estos tratamientos, se rompe la matriz que contiene los gránulos de almidón, lo que permite que los microorganismos existentes en el rumen lo utilicen con facilidad y se mejora considerablemente la utilización de la proteína del grano.<sup>6</sup>

La presente investigación tiene como finalidad contribuir al conocimiento del efecto del procesamiento del grano de sorgo mediante la reconstitución y el germinado y su posterior ensilaje sobre las alteraciones en el contenido de carbohidratos estructurales y de las fracciones de proteína para utilizar más eficientemente el grano de sorgo en la alimentación de rumiantes.

## 1. REVISIÓN DE LITERATURA

### 1.1 PRODUCCION DE GRANO DE SORGO

En el mundo se utilizan 39.46 millones de hectáreas para el cultivo de grano de sorgo (*Sorghum bicolor* L. Moench). Lo que produjo alrededor de 56.65 millones de toneladas entre 2006 y 2007<sup>7</sup>. Nigeria es el país con mayor producción de grano, con alrededor de 10.50 millones de toneladas en el ciclo 2006 y 2007. México ocupa el quinto lugar produciendo 5.81 millones de toneladas, con un rendimiento aproximado de 3.64 Ton/Ha<sup>7</sup> (Figura 1).

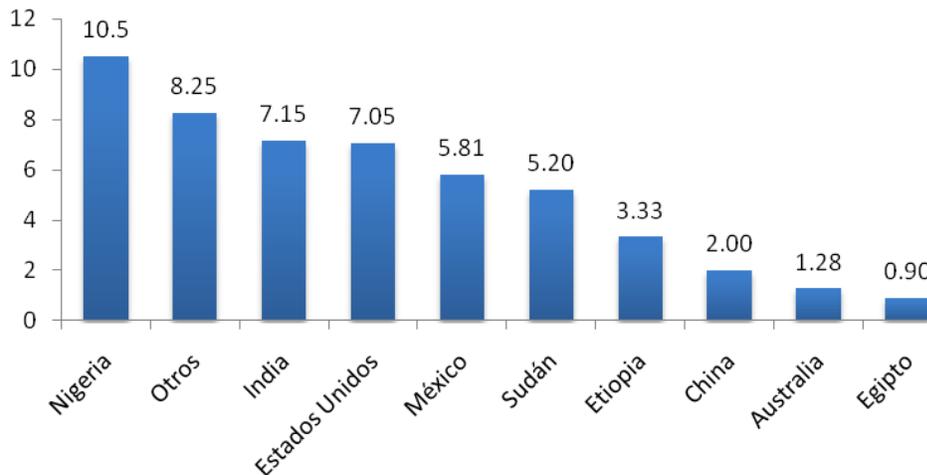


Figura 1. Países con mayor producción de grano de sorgo (millones de toneladas, 2006 - 2007)<sup>7</sup>

En México, los estados con mayor producción de grano de sorgo son: Nayarit, Michoacán, Sinaloa, Guanajuato y el que presenta la mayor superficie cultivada es Tamaulipas, abarcando 899,552.07 has y produciendo 2,490,194.23 toneladas en el año 2007<sup>8</sup> (Cuadro 1).

Cuadro 1. Principales Estados productores de grano de sorgo (2007)

ESTADO	PRODUCCIÓN (Ton)	RENDIMIENTO (Ton/Ha)
Tamaulipas	2, 490,194.23	2.85
Guanajuato	1, 298,477.75	6.19
Sinaloa	613,447.66	2.48
Michoacán	499,018.90	4.82
Nayarit	291,922.20	5.31
Morelos	192,642.90	4.79
Jalisco	175,870.04	4.66
San Luis Potosí	84,998.29	2.29
Sonora	69,554.32	2.27
Puebla	66,973.16	4.38

(SIAP – SAGARPA, 2008)<sup>8</sup>

La planta de sorgo es única en su habilidad para producir energía eficientemente bajo condiciones muy adversas de cultivo; puede crecer y reproducirse en suelos con poca humedad y niveles bajos de nutrientes.<sup>9</sup> Existen diversas variedades comerciales para producción de grano de sorgo, las más utilizadas son: Durra, Kafir, Hegari, Milo, Shallu, Faterita y Kaoliang.<sup>9, 10</sup> Antes de la obtención de los híbridos de sorgo de poca altura, el grano más empleado en las engordas intensivas de aves, cerdos y bovinos era el maíz, pero al ser más fácil el cultivo de sorgo por sus menores exigencias hídricas y mayor resistencia al calor, la extensión destinada para su cultivo aumentó significativamente.<sup>10</sup>

En la obtención de híbridos se han perseguido principalmente dos objetivos: producir plantas de menor tamaño con panojas erguidas verticalmente y fáciles de cosechar mecánicamente y obtener plantas más productoras en grano que, a la vez, sean buenas productoras de forraje. Además de estos dos objetivos principales, con los híbridos se han obtenido otras ventajas como adaptación a climas y suelos que hacen mucho más fácil y rentable su cultivo. Así se han obtenido plantas muy resistentes a la sequía con variedades que, en climas

templados, han resistido más de ochenta días sin agua; otras variedades que al ser menos exigentes en la fertilidad del suelo, se pueden cultivar en terrenos impropios para el maíz; otras son resistentes a suelos moderadamente salinos.<sup>10,11</sup>

Otra ventaja de los híbridos del sorgo es que se ha obtenido toda una gama de variedades, con distintas duraciones de ciclo y que van desde variedades muy precoces, propias de climas cálidos y que permiten obtener anualmente dos cosechas de grano o de forraje, a las más tardías, lo cual ha permitido aumentar su cultivo. Asimismo, los híbridos tienen una mayor resistencia a las enfermedades y plagas.<sup>10</sup>

Los híbridos producidos por firmas comerciales al no dar a conocer el nombre de los progenitores, se nombran por las iniciales de la denominación de la casa productora y por un número que identifica a cada híbrido en particular. Entre las firmas comerciales conocidas están: Asgrow, Dekalb, Ferry – Morse, Frontier, Lindsey Funks, Northrup king, Pioneer, Taylor Evans, etc.<sup>9, 10</sup>

## **1.2 VALOR NUTRITIVO DEL GRANO DE SORGO**

Los granos de cereales son, esencialmente, concentrados de carbohidratos, cuyo componente fundamental de la materia seca es el almidón, que se localiza en el endospermo.<sup>12</sup>

La composición del grano de sorgo es muy parecida a la de otros granos utilizados en la alimentación del ganado. Al igual que el maíz y trigo, tiene baja cantidad de fibra celulósica, por la facilidad en que se separan las glumas y demás partes de la espiga, que presenta mayor contenido de celulosa; la cantidad de proteína en el sorgo es ligeramente superior a la del maíz y el arroz; el contenido de grasa es menor que el de maíz y avena, pero superior al de cebada, arroz y trigo. Después del maíz, el grano de sorgo es el que tiene mayor valor energético total.<sup>10</sup>

Respecto a los compuestos nitrogenados, 85 – 90 % se encuentra en forma de proteínas. Aunque las proteínas se encuentran en todos los tejidos de los granos

de cereales, las mayores concentraciones se presentan en el embrión y la capa de la aleurona; sin embargo, el endospermo contiene el aporte de proteína total del grano más importante, mientras que en el pericarpio y la testa presentan cantidades de menor importancia. El contenido en proteína en el endospermo aumenta desde el centro hacia la periferia.<sup>12</sup>

Al igual que en muchas otras proteínas vegetales, la lisina constituye el primer aminoácido limitante en el sorgo, seguido de la treonina. Además, presenta cantidades insuficientes de otros aminoácidos esenciales, tales como: histidina, triptófano y aminoácidos azufrados.<sup>13</sup>

### **1.3 COMPOSICIÓN FÍSICO – QUÍMICA DE LAS ESTRUCTURAS DEL GRANO DE SORGO**

En el grano de sorgo pueden identificarse tres grandes estructuras y cuya composición aproximada es como sigue: el pericarpio o revestimiento (6 – 8 %) que brinda protección al grano, el endospermo o almidón (80 – 84 %) que provee de energía al germen y el embrión o germen (10 %) el cual inicia una nueva planta. Las proporciones pueden variar dependiendo de la genética, medio ambiente y grado de madurez.<sup>4, 14</sup> Algunas variedades contienen carotenos y xantofilas en el endospermo.<sup>9, 10</sup> Un resumen de la composición proximal del grano de sorgo se muestra en el Cuadro 2.

Cuadro 2. Contenido proteínico (PC), extracto etéreo (EE), fibra cruda (FC) y cenizas (CEN) del grano de sorgo

AUTOR, AÑO	PC ( % )	EE ( % )	FC ( % )	CEN ( % )
Cohen, 1973 <sup>15</sup>	10.5 – 15.0	2.8 – 3.5	2.9 – 3.7	4.4 – 5.0
Hulse, 1980 <sup>4</sup>	12.7 – 16.7	3.1 - 4.1	1.8 – 2.2	1.8
Albiñana, 1984 <sup>10</sup>	12.7	3.7	2.8	2.3
Arteaga, 1989 <sup>13</sup>	8.7 – 13.1	4.3 – 5.0	1.2 – 2.2	1.5 – 1.9
Bennett, 1990 <sup>9</sup>	11	2.8	2	2.8
Sniffen, 1992 <sup>5</sup>	12.5	3.1	-	2.1
FAO, 1994 <sup>16</sup>	13.9	3.5	1.7	1.8
Buffo, 1998 <sup>17</sup>	10.3	4.1	-	-
FEDNA, 2003 <sup>18</sup>	8.8	3.0	2.2	1.3
Tisch, 2006 <sup>11</sup>	10.5	2.8	2.4	-
Hernández, 2007 <sup>19</sup>	8.87	4.66	2.34	2.23

El contenido de carbohidratos en el grano de sorgo maduro se distribuye de la siguiente manera:

Almidón	56.00 – 69.00 %
Sacarosa	0.77 – 0.84 %
Fructosa	0.05 – 0.14 %
Glucosa	0.04 – 0.14 %
Rafinosa	0.09 – 0.13 %

(Albiñana, 1984)<sup>10</sup>

### 1.3.1 PERICARPIO

El pericarpio es la capa externa presente en los granos, el cual se encuentra totalmente unido al endospermo; tiene un espesor aproximado de 0.4  $\mu\text{m}$  y está compuesto de tres a cuatro subcapas: el epicarpio, el mesocarpio, y el endocarpio, además de la subcapa hipodérmica, la cual no siempre se diferencia del epicarpio. El epicarpio es la capa más externa, consiste generalmente de dos o tres capas de células alargadas, gruesas y rectangulares; esta subcapa puede o no estar pigmentada.<sup>20</sup> En general, el mesocarpio tiene un grosor similar al pericarpio el

cual varía entre genotipos. El endocarpio está formado por células tubulares transversales que se colocan en ángulo recto del eje principal del grano y de una capa de células tubulares que transportan la humedad al grano.<sup>4</sup>

Adyacente al endocarpio se localiza la testa o revestimiento de la semilla (Figura 2). En algunos genotipos de sorgo la testa está muy pigmentada. El color y el pigmento son una característica genética. El espesor de esta capa no es uniforme, es gruesa cerca de la zona de la corona del grano y delgada cerca de la parte del embrión. En algunos genotipos hay una testa parcial, mientras que en otros no se ve a simple vista o no existe.<sup>4, 20</sup>

### **1.3.2 ENDOSPERMO**

El endospermo se compone de una capa de aleurona y de zonas periféricas de textura córnea y harinosa (Figura 2). La aleurona es una única capa que está inmediatamente debajo del revestimiento de la testa. Las células de la aleurona son ricas en minerales, vitaminas del complejo B y lípidos. El endospermo periférico se caracteriza por sus células rectangulares largas, que son muy compactas que contienen gránulos amiláceos y sustancias proteínicas dentro de una matriz. El almidón contenido en estas células no está, por lo tanto, fácilmente disponible para la digestión enzimática, a menos que la proteína que lleva asociada también se reduzca.<sup>21</sup>

La capa periférica se compone de células que contienen una parte elevada de proteína. La capa córnea o endospermo córneo, debajo de la capa periférica, contiene más proteína y su aspecto es translúcido. Dentro de la capa córnea se encuentra la capa harinosa o endospermo blando; es una capa suave que es más baja en proteína.<sup>4, 20</sup>

El sorgo generalmente tiene proporciones más grandes de endospermo córneo o duro que el maíz. La región periférica del grano que contiene al endospermo córneo es más densa, dura y resistente a la penetración de agua y a la digestión.

Esta región provee protección a las células del almidón. En el endospermo córneo, los gránulos de almidón son más pequeños y la matriz proteínica es continua. El endospermo harinoso o blando contiene gránulos más grandes y está rodeado por una matriz proteínica discontinua.<sup>22</sup>

En el endospermo córneo, los gránulos amiláceos son esféricos y su tamaño es relativamente mayor que el de los gránulos amiláceos de la zona córnea. El almidón de la zona harinosa es más susceptible a la degradación enzimática. El almidón del endospermo harinoso es grande y de forma esférica.<sup>12</sup>

Los almidones de los cereales están compuestos por 25 % de amilosa y 75 % de amilopectina aproximadamente. Sin embargo, los almidones céreos contienen mayor cantidad de amilopectina.<sup>12</sup>

La matriz proteínica es, principalmente, glutelina y otras sustancias proteínicas son prolaminas solubles en alcohol, que constituyen la mayor proporción de la proteína total del grano.<sup>12</sup>

Hale, citado por Mendoza<sup>24</sup> sugirió que la degradación de la matriz proteínica del grano de sorgo permitía el acceso de los microorganismos y sus enzimas al gránulo de almidón. Y que además, el grado de degradación de dicha matriz, es un factor importante para mejorar la utilización del almidón.

### **1.3.3 GERMEN O EMBRION**

El embrión (Figura 2) está conformado por un escutelo grande, un eje embrionario, una plúmula y una raíz primaria. El escutelo es una porción aplanada que funciona como un órgano de absorción y almacenamiento, rico en lípidos, proteínas, enzimas y minerales. Existe una capa de unión entre el escutelo y el endospermo integrada por glándulas. El embrión es rico en proteínas, lípidos, minerales y vitaminas del complejo B.<sup>4</sup> El embrión se encuentra firmemente adherido y es muy difícil de quitar mediante algún tipo de procesamiento como el molido en seco.<sup>4</sup>

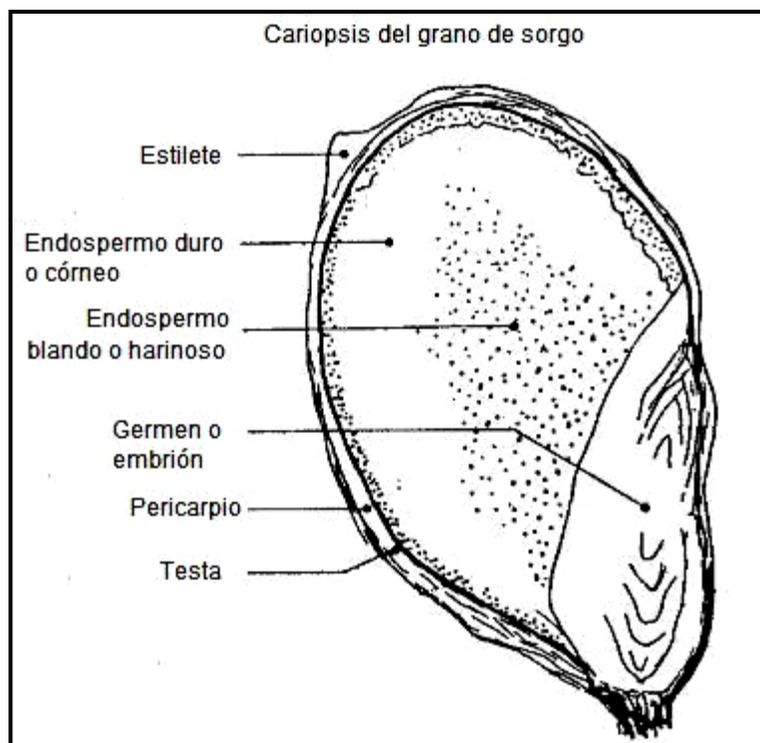


Figura 2. Estructuras del grano de sorgo<sup>23</sup>

#### 1.4 ALMIDÓN

El almidón es el carbohidrato en el que la mayoría de las plantas almacenan su energía. La celulosa en una planta se presenta como carbohidrato estructural; da a la planta la rigidez que necesita para crecer. Juntos, almidón y celulosa son los componentes más abundantes de las dietas de herbívoros. Cuando estos carbohidratos se consumen, digieren y absorben por el ganado, su energía se libera y aprovecha para satisfacer las necesidades nutrimentales.<sup>11</sup>

El almidón es un polímero de condensación de glucosa que está presente en forma granular en las semillas, tubérculos y raíces.<sup>24</sup> Los granos de cereales contienen entre 70 y 80 % de almidón, que se encuentra en el endospermo y está compuesto de dos grandes tipos de moléculas: amilosa y amilopectina.<sup>4, 14</sup>

En los gránulos de almidón, la almidón sintasa envolvente (GBSS) cataliza la adición de unidades de glucosa a partir de ADP – glucosa. Esta enzima sólo se

encuentra en el gránulo y es responsable de la síntesis de amilosa. La síntesis de amilopectina se produce predominantemente en la superficie de los gránulos y al menos nueve isoformas de la enzima son necesarias. La presencia de puntos de ramificación de la amilopectina permite que se formen las cadenas cortas de manera eficiente como dobles hélices paralelas, formando la base de los gránulos semicristalinos del almidón.<sup>25</sup>

El tamaño de los gránulos es variable, dependiendo de las especies de grano; el gránulo de almidón tiene un tamaño entre 2 a 30  $\mu\text{m}$  de diámetro, con formas esféricas a poligonales (Figura 3). El área cristalina o micelar está principalmente compuesta de amilopectina; esta área es resistente a la absorción de agua y el ataque enzimático. El área amorfa es rica en amilosa y es menos densa que la región cristalina; el agua puede moverse libremente a través de esta área y el ataque enzimático puede realizarse en esta zona.<sup>2, 22</sup>

La disponibilidad del almidón contenido en el grano de sorgo está afectada principalmente por las interacciones proteína – almidón ya que los gránulos de almidón se encuentran rodeados por una matriz proteínica y cuerpos proteínicos. La integridad celular de las unidades de almidón y los factores antinutricionales (presencia de fitatos y taninos) hacen que el almidón esté más o menos disponible y, por lo tanto, que el grano pueda ser aprovechado.<sup>22</sup>

La Figura 3 presenta una microfotografía por escaneo electrónico de los gránulos de almidón rodeados por una matriz proteínica y cuerpos proteínicos, que al ser muy densos, limitan la digestión del almidón.

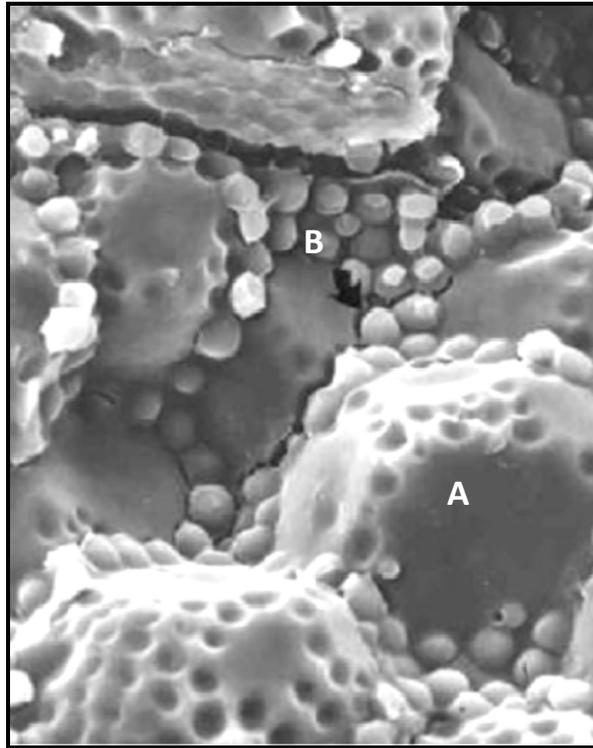


Figura 3. Microfotografía de los gránulos de almidón (A) rodeados de los cuerpos proteínicos (B) del sorgo <sup>26</sup>

#### **1.4.1 AMILOSAS**

La amilosa es un polímero lineal que contiene hasta 6,000 unidades de glucosa unidas por enlaces  $\alpha$ -1,4. Se encuentra unida a la estructura de la amilopectina por puentes de hidrógeno, localizados fundamentalmente en las regiones amorfas.<sup>2, 14, 22, 24, 27</sup>

Generalmente la proporción de amilosa en el almidón puede variar entre un 20 y 30 % dependiendo de la especie y la variación genética.<sup>14</sup>

#### **1.4.2 AMILOPECTINA**

La amilopectina es el componente más abundante del almidón (70 – 80 %), cuya estructura ramificada, comprende zonas organizadas o cristalinas, compuestas por enlaces lineales tipo  $\alpha$ -1,4 y sus puntos de ramificación se unen por enlaces  $\alpha$ -1,6.

Una unión se establece aproximadamente cada 20 a 25 moléculas de glucosa, dando como resultado una estructura altamente organizada.<sup>2, 14, 22, 24, 27</sup>

## 1.5 KAFIRINAS

Las proteínas son biomoléculas formadas básicamente por carbono, hidrógeno, oxígeno y nitrógeno. Pueden además contener azufre, fósforo, hierro, magnesio y cobre, entre otros elementos. Están conformadas por polímeros de aminoácidos, los cuales están unidos mediante enlaces peptídicos.<sup>11, 28</sup>

La investigación que se ha hecho respecto a las proteínas del sorgo y su contribución a la nutrición animal y a la calidad del alimento es menor en comparación a otros cereales. Los estudios realizados se dividen en dos áreas: proteínas del grano y su interacción para formar estructuras que afectan las propiedades del alimento; y la influencia en la digestibilidad de las proteínas y la disponibilidad de almidón.<sup>26</sup>

Las proteínas de los granos según sus características de solubilidad se clasifican generalmente en cuatro clases: 1) albúmina, que es hidrosoluble; 2) globulina, soluble en una solución salina diluida; 3) prolamina, soluble en alcoholes fuertes y 4) glutelina, extraíble en una solución alcalina o ácida diluida.<sup>26, 29</sup>

Las prolaminas son un grupo de almacén proteínico en las plantas; tienen alto contenido de prolina y glutamina y se encuentran en los granos de cereales: trigo (gliadina), cebada (hordeína), centeno (secalina), maíz (zeína), sorgo (kafirinas), avena (avenina).<sup>30</sup>

La matriz proteínica del sorgo está formada por glutelinas y puede estar presente de manera continua o incompleta.<sup>22</sup> Las prolaminas o kafirinas están embebidas en esta matriz y constituyen la fracción proteínica más abundante: ocupa el 70 – 80 % del total del endospermo.<sup>29, 31, 32</sup>

Las kafirinas y las zeínas son proteínas hidrofóbicas. Se ha sugerido que las kafirinas son menos solubles (por lo tanto, más hidrofóbicas) que las zeínas del maíz.<sup>32</sup>

Las kafirinas se clasifican en  $\alpha$ ,  $\beta$  y  $\gamma$  – kafirinas (Cuadro 3). Esta clasificación parte de su estructura, peso molecular y características de solubilidad. Existe otro grupo dentro de la clasificación compuesto por  $\delta$  – zeínas y solo se encuentran presentes en el grano de maíz.<sup>3, 31</sup>

Cuadro 3. Propiedades de las kafirinas<sup>3</sup>

Tipo de kafirina	Masa molecular	No. de residuos de aminoácidos	Composición de aminoácidos
$\alpha$	20,000 – 25,000	240 – 250	Rico en aminoácidos no polares, sin Lisina, 1 Triptofano. 10 bloques de aminoácidos repetidos
$\beta$	16,000 – 20,000	172	Rico en Metionina, Cisteína y 2 Triptofano
$\gamma$	28,000	193	Rico en Prolina, Cisteína, Histidina, sin Lisina, Asparagina, Aspartato, Triptofano. 4 repeticiones
$\delta$	12, 961	114	Rico en Metionina, sin Lisina, 1 Triptofano

Las kafirinas son sintetizadas y depositadas en el retículo endoplásmico rugoso de los cuerpos proteínicos, donde se acumulan y se empaquetan como proteínas de cerca de 1 $\mu$ m de diámetro.<sup>31, 32, 33</sup> Estas proteínas están estructuradas de tal manera que la mayoría de las  $\alpha$  – kafirinas se encuentran en el centro y las  $\gamma$  – kafirinas y algunas  $\beta$  – kafirinas se localizan en la periferia en el grano de sorgo y maíz.<sup>32, 34</sup>

#### $\alpha$ – Kafirinas

Las  $\alpha$  – kafirinas comprenden alrededor de 80 – 84 % del total del endospermo duro y 66 – 70 % en el endospermo blando.<sup>3</sup> Una alta proporción de esta fracción se determina extrayéndola con alcohol acuoso, obteniéndose una mezcla de

monómeros y polímeros. Sin embargo, algunas subunidades no pueden extraerse de esta manera por lo que algunos autores utilizaron electroforesis en 2D como análisis para determinarlas. También se utiliza la separación de genes. Otro método es la determinación de la secuencia y frecuencia de aminoácidos.<sup>34</sup> Las bajas proporciones de lisina y triptófano en estas prolaminas contribuyen a una pobre calidad nutricional en el grano entero.<sup>30</sup>

### β – Kafirinas

Watterson *et al.* (citados por Belton<sup>3</sup>) señalaron que las β – kafirinas conforman 7 – 8 % del total de kafirinas en el endospermo duro y 10 – 13 % en el endospermo blando. Estas son insolubles en alcohol acuoso ya que corresponden a prolaminas y en forma similar a las γ – kafirinas son más digestibles que las α – kafirinas, debido a su ubicación en los cuerpos de la proteína; las α – kafirinas se localizan en el interior de la capa de proteína, lo que las hace más resistentes a la digestión enzimática.<sup>31</sup> La determinación de esta fracción se realiza mediante pruebas de electroforesis.<sup>34</sup>

### γ – Kafirinas

Estas prolaminas son solubles en agua; también se les denomina “proteína soluble reducida”.<sup>3</sup> En el sorgo se encuentran presentes en 9 – 12 % en el endospermo duro y 19 – 21 % en el endospermo blando. Este grupo se considera el más hidrofóbico en el grano de sorgo y de maíz, debido a su alto contenido de histidina. Debido a las características físico – químicas de las γ – kafirinas (cuyo pKa y pH es relativamente neutro), permiten determinarlas por la medición de captación de humedad y temperatura.<sup>28, 31</sup>

En un estudio sobre la digestibilidad del grano de sorgo Duodu *et al.*<sup>32</sup> describen los diferentes factores que afectan la digestibilidad de las proteínas, clasificándolos como exógenos y endógenos. Como factores exógenos citan la estructura del grano, la presencia de polifenoles (taninos), ácido fítico y cantidad

de polisacáridos presentes en el almidón. Como factores endógenos señalan al tipo de enlace de los aminoácidos (la presencia de puentes disulfuro por ejemplo), la hidrofobicidad de las kafirinas y los cambios en la estructura secundaria de las proteínas. También se ve afectada la digestibilidad por la localización física de las kafirinas (en el centro del cuerpo de la proteína hay mayor almacenamiento de prolaminas).<sup>31, 32</sup> Los tipos de procesamiento del grano alteran las uniones que se presentan entre las kafirinas, influyendo en las propiedades de las proteínas, su valor biológico y su digestibilidad.<sup>3</sup>

Algunos estudios han demostrado que los granos con endospermo duro contienen mayor cantidad de kafirinas que los de endospermo suave. Las  $\gamma$  - kafirinas fueron especialmente elevadas en los granos de endospermo duro, (30 % más) que en el endospermo suave, y el contenido y la distribución de  $\alpha$  y  $\gamma$  – kafirinas modificaron la textura del endospermo, probablemente aumentando el tamaño del cuerpo proteínico. La  $\gamma$  – kafirina que se encuentra principalmente en la superficie del grano confiere rigidez mediante la formación de puentes disulfuro con ella misma u otras proteínas periféricas.<sup>35</sup>

## **1.6 FRACCIONES DE LA PROTEINA DE ACUERDO AL SISTEMA CNCPS**

Las proteínas en el grano de sorgo pueden dividirse en dos clases: a) estructurales presentes en el embrión, que contienen una composición relativamente constante, y b) de almacenaje presentes en el endospermo que rodean la capa de aleurona y proveen de alimento a la joven planta. Estas proteínas presentan variaciones en su composición entre variedades o híbridos de sorgo, de acuerdo a su genética.<sup>4, 14</sup>

El valor estimado de proteína de los alimentos se expresa como proteína bruta o cruda (N total x 6.25) y proteína digestible. Es indispensable conocer, estimar y cuantificar la digestión de esta fracción dentro del sistema digestivo de los animales domésticos. En rumiantes, la investigación llevó al fraccionamiento de la proteína con base en su solubilidad y degradabilidad. Se resaltan diferentes

fracciones de acuerdo con la cantidad de proteína que se degrada a nivel ruminal o escapa del rumen hacia la digestión intestinal o hacia la excreción de los animales.<sup>5</sup>

El sistema de predicción desarrollado por la Universidad de Cornell, CNCPS por sus siglas en inglés (Cornell Net Carbohydrate and Protein System) clasifica a la proteína en tres componentes: fracción A, B y C.<sup>11, 12, 36, 37</sup>

### Fracción A

Esta fracción representa al nitrógeno no proteínico (NNP), se degrada rápidamente en el rumen y es muy soluble; está compuesta por nitratos, péptidos y aminoácidos. Los microorganismos ruminales convierten rápidamente esta fracción a amoníaco. Gran parte de la proteína cruda degradable en forrajes conservados corresponde a esta fracción.<sup>5, 11, 12, 38</sup>

### Fracción B

La fracción B es proteína verdadera y se subdivide en tres fracciones: B1, B2 y B3. La fracción B1 contiene proteína verdadera rápidamente degradada en el rumen a amoníaco; está compuesta de globulinas y algunas albúminas. La mayor parte de la proteína degradable en pastos es B1.<sup>12, 38</sup>

La fracción B2 contiene proteína verdadera que se degrada parcialmente, tanto en el rumen como en el intestino delgado; está compuesta de albúminas y glutelinas. Esta fracción se clasifica como glutelina, encontrada en los granos.<sup>12</sup>

La fracción B3 está formada por proteína verdadera no degradable. Esta fracción se asocia a las paredes celulares y está compuesta de prolaminas, proteínas de la pared celular y proteínas desnaturalizadas.<sup>12</sup> En el caso de los granos, las prolaminas (almacén proteínico en los granos), como la zeína y las kafirinas, se encuentran en la fracción B3, la cual escapa a la degradación en el rumen.<sup>36, 39, 40</sup>

## Fracción C

La fracción C es proteína insoluble asociada a lignina, por lo que no puede degradarse en el rumen ni en el intestino delgado; es proteína no utilizable ni por el animal ni por los microorganismos ruminales.<sup>5, 11</sup>

La fracción C está conformada por proteína verdadera, resistente a la acción enzimática microbiana. Contiene la proteína asociada a paredes celulares ligada a la lignina, complejos de taninos – proteínas y productos de la reacción de Maillard que son altamente resistentes a enzimas microbianas y de mamíferos.<sup>5, 11, 39</sup>

## Determinación de las fracciones de proteína

La determinación de estas fracciones en el laboratorio se lleva a cabo sobre la base de extracciones con borato – fosfato y para los carbohidratos se emplea el sistema de los detergentes de Goering y Van Soest, utilizando técnicas de nitrógeno soluble (fracciones A y B1) y nitrógeno insoluble (fracciones B2, B3 y C) (Anexos 1.1 al 1.5), propuestas por investigadores de la Universidad de Cornell al desarrollar el sistema CNCPS (Figura 4).<sup>5, 36, 41</sup>

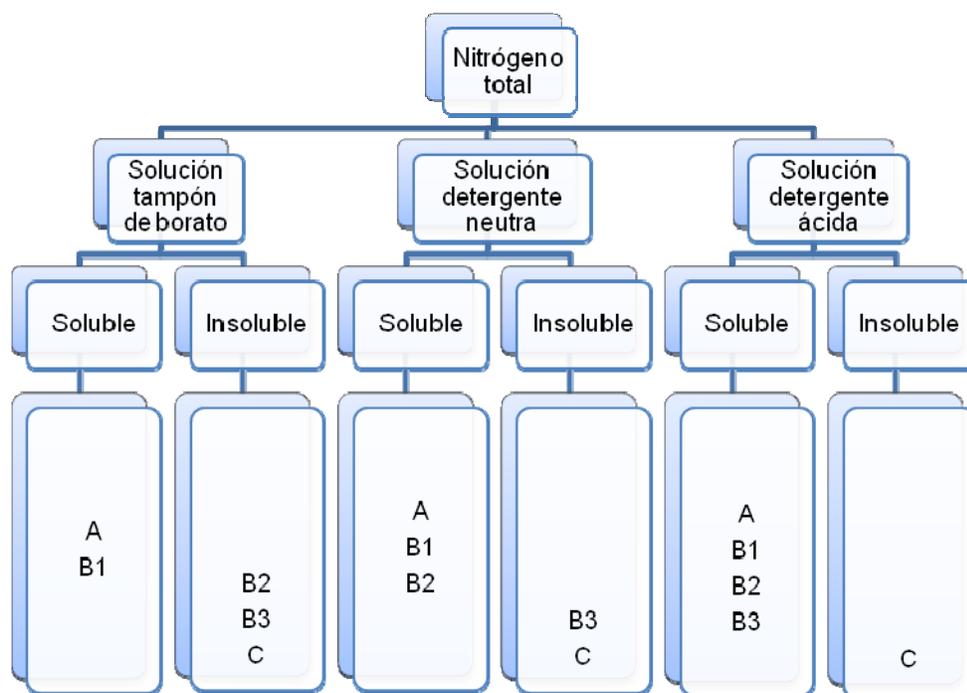
Las fracciones A y B1 son solubles en una solución buffer. La fracción A se calcula de la siguiente manera: nitrógeno soluble - nitrógeno soluble verdadero; la fracción B1 es la fracción precipitable en ácido tricloroacético. El nitrógeno soluble verdadero es igual a proteína cruda menos el nitrógeno insoluble.<sup>5, 36, 39, 41</sup>

La proteína insoluble en buffer menos la proteína insoluble en solución detergente neutra es la fracción B2.<sup>5, 36, 41</sup>

La fracción B3 es insoluble en solución detergente neutra, pero soluble en solución detergente ácida. Los granos y forrajes ensilados contienen cantidades significativas de esta fracción.<sup>36, 39, 40</sup>

La fracción C se mide como proteína insoluble en detergente ácido (PC - FDA).<sup>12, 36, 39</sup>

Se ha señalado una asociación entre la proteína y las membranas celulares del pericarpio o el endospermo y es posible que una asociación de ese tipo pueda disminuir la digestibilidad de la proteína, mediante una reducción a la accesibilidad de las enzimas o bien por la formación de complejos indigestibles en el grano de sorgo dentro del endospermo. Los gránulos del almidón y los cuerpos proteínicos están rodeados por membranas celulares y se ha observado que el endospermo aislado del sorgo contiene hasta 46 % de proteína asociada a membranas celulares. Cantidades significativas de proteína se asociaron a la fibra dietética total y a la fibra detergente ácida (FDA, residuo obtenido después de la extracción del almidón, de la proteína y de las hemicelulosas con una solución detergente ácida). La composición de aminoácidos en la proteína del grano de sorgo asociado a la FDA se asemeja al de las kafirinas.<sup>32</sup> Algunos autores han señalado la existencia de correlaciones significativas entre el contenido de proteína cruda y la degradabilidad, encontrándose una menor proporción de la fracción nitrogenada ligada a la fibra al aumentar el contenido en nitrógeno.<sup>12</sup> La Figura 4 muestra las distintas fracciones de la proteína de acuerdo al sistema CNCPS.



A = insoluble en tampón; B1= soluble en tampón y precipitado por ácido tricloroacético;  
 B2 = insoluble en tampón pero soluble en soluciones detergentes neutro y ácido;  
 B3 = insoluble en tampón, insoluble en solución detergente neutro, pero soluble en solución detergente ácido;  
 C = insoluble en tampón y en las soluciones detergentes neutro y ácido.

Figura 4. Fracciones de la proteína según el sistema CNPCS <sup>12</sup>

La fracción de la proteína cruda que se degrada inmediatamente puede no ser una fuente de nitrógeno tan efectiva para los microorganismos como la que se degrada lentamente. Generalmente, se considera que la fracción de nitrógeno que se degrada lentamente se incorpora a la proteína microbiana, en tanto que la que se degrada inmediatamente se utiliza con menos eficiencia.<sup>12, 40</sup>

Los aminoácidos, péptidos, globulinas, albúminas y glutelinas se digieren casi totalmente; las prolaminas, proteínas asociadas a paredes celulares y las proteínas desnaturalizadas tendrán valores de digestibilidad cercanos a 80 %; la proteína de los productos indigestibles como los productos Maillard y el nitrógeno ligado a la lignina son totalmente indigestibles. Se ha comprobado que la digestibilidad está inversamente relacionada con el contenido de nitrógeno

insoluble en detergente ácido, que representa a la fracción del nitrógeno de los alimentos que se encuentra estrechamente ligada a la fibra insoluble.<sup>12</sup>

La proteína presente en el intestino del rumiante es diferente de la ingerida con la dieta, dado que los microorganismos ruminales degradan más de la mitad de las proteínas consumidas. El metabolismo proteínico en el rumen es muy complejo; los microorganismos degradan los alimentos, destruyendo inicialmente la pared de las células e iniciando el proceso hidrolítico continuo de las proteínas. La destrucción proteínica por desaminación fermentativa produce dióxido de carbono, amoníaco y ácidos grasos de cadena corta.<sup>40</sup>

### **1.7 MÉTODOS DE TRATAMIENTO DE GRANOS**

Para que el grano de sorgo pueda ser aprovechado eficientemente por los animales tiene que ser sometido a un tratamiento. Existen diversos tratamientos que por las características del proceso utilizado se dividen en: secos y húmedos.<sup>24</sup> Dentro de los primeros figuran: molido, quebrado, rolado en seco, etc. Y dentro de los tratamientos húmedos se encuentran: rolado con vapor, hojueleado al vapor, micronizado, extruido, etc. que en la primera fase del proceso requieren la reconstitución o hidratación del grano.<sup>24</sup>

Los tratamientos húmedos requieren una rápida absorción de agua para hidratar completamente a los granos en el menor tiempo posible. El agua penetra al interior del grano por diferentes rutas, que pueden ser alteradas cambiando las condiciones del tratamiento aplicado. La absorción de agua está determinada por la macro y micro estructura, condición y composición química del grano, temperatura, estado físico, contenido de solutos del agua y la cantidad relativa así como la distribución de esta sobre la superficie. El porcentaje de absorción de agua se puede aumentar efectivamente manteniendo alta la temperatura del agua. Los patrones de movimiento del agua en el grano de maíz y sorgo son similares.<sup>22</sup> Sin embargo, no hay mucha información en los híbridos y variedades de reciente selección.

El sorgo tiene una fuerte cutícula cerosa en la superficie del epicarpio, como el maíz. En el grano de sorgo el agua entra por una punta del grano, difunde a través de la capa de células tubulares del pericarpio y penetra en el endospermo a través de la región dentada y el germen. Tanto en el maíz como en el sorgo, la capa de aleurona tiene una gruesa pared que evita el movimiento rápido de agua dentro del endospermo. Aunque el endospermo periférico está muy cercano a la superficie del grano, se hidrata al final; después, el agua penetra al germen y a las capas de endospermo harinoso y córneo. La Figura 5 muestra el movimiento interno de agua en el grano de sorgo durante el proceso de hidratación. Los distintos procedimientos para alterar la cutícula del sorgo modifican el grado de movimiento y absorción de agua dentro del grano.<sup>22</sup>

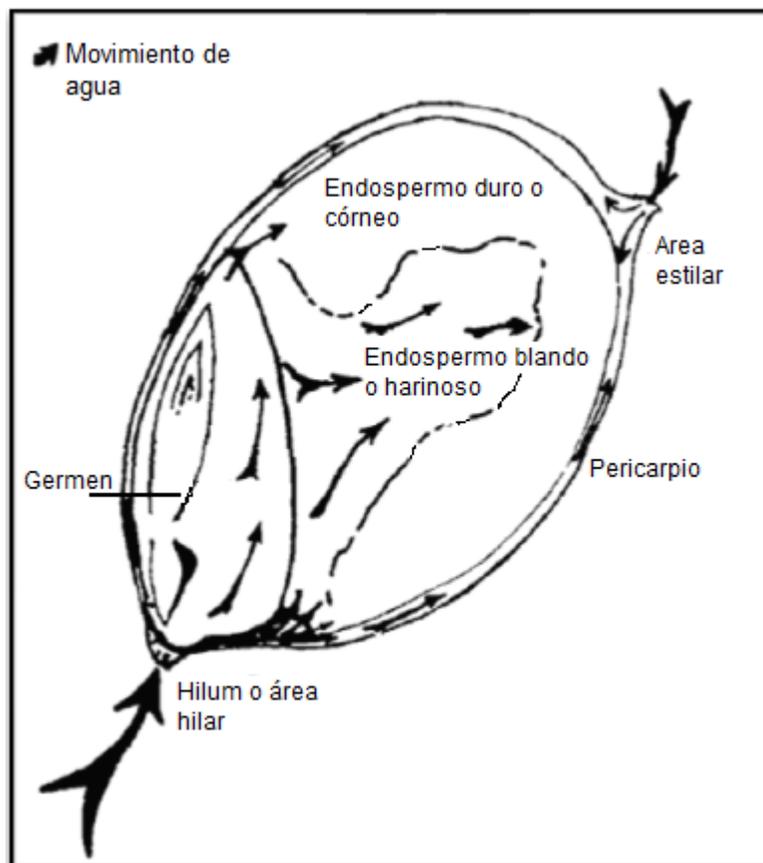


Figura 5. Entrada y movimiento de agua en el grano de sorgo<sup>22</sup>

### **1.7.1 EL PROCESO DE RECONSTITUCION DEL GRANO DE SORGO**

La reconstitución puede definirse como el proceso mediante el cual se adiciona agua al cereal recolectado maduro cuando alcanza bajo porcentaje de humedad en el grano (10 – 14 % de humedad), para aumentar su nivel de absorción de humedad hasta el 20 – 35 %. Esa captación de humedad posterior a la cosecha y almacenamiento del grano seco, se puede incrementar de distintas formas. Una es a través del aumento en la temperatura del agua usada para la reconstitución hasta 48 – 60 °C. Otra es mediante el uso de surfactantes que favorecen la penetración del agua. Otros son métodos mixtos que manifiestan distinta concentración de surfactante que modifica la eficiencia para alcanzar la reconstitución.<sup>42</sup> Al utilizar estos tratamientos se rompe la matriz que retiene los gránulos de almidón. Así, los microorganismos ruminales pueden utilizar con facilidad el almidón y la utilización de la proteína del grano.<sup>2</sup> En el caso del sorgo, se han observado importantes diferencias en la digestión ruminal e intestinal del almidón debidas a la reconstitución.<sup>2, 43</sup>

### **1.7.2 EL USO DE AGENTES SURFACTANTES EN LA RECONSTITUCION DEL GRANO DE SORGO**

Una opción utilizada actualmente para mejorar el procesamiento de los granos, principalmente en el hojueleado al vapor y rolado, es la utilización de agentes surfactantes o temperizantes, los cuales se aplican en el momento de la reconstitución de los granos a altas temperaturas, incrementando la absorción de humedad. Además de reducir el número de partículas finas durante el procesamiento de los granos, también puede aumentarse el valor nutritivo del grano de sorgo.<sup>42, 44</sup>

Rush *et al.*<sup>45</sup> realizaron un estudio con la aplicación de un agente surfactante en grano de maíz antes del rolado para bovinos. Los tratamientos utilizados fueron maíz rolado en seco, maíz mojado antes de ser rolado y maíz tratado con el agente surfactante y agua previamente al rolado. Obtuvieron mayor eficiencia

alimenticia en este último tratamiento, sin que las diferencias en consumo o ganancias de peso fueran significativas.

Mc Allister *et al.*<sup>46</sup> evaluaron el efecto de un agente temperizante previo al rolado del grano de cebada en la alimentación de bovinos. Utilizaron grano con diferentes contenidos de humedad: 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20 y 22 % y seis niveles de surfactante: 0, 60, 120, 240, 480 y 960 mg kg<sup>-1</sup> de la materia seca del grano. Con los mejores resultados evaluaron la digestibilidad *in vivo* de tres tratamientos: grano sin tratar, grano con agua, y grano con una solución de agua más agente temperizante. Los resultados mostraron mayor absorción de humedad en las primeras dos horas en el grano tratado con el surfactante y no encontraron efecto del tamaño de partícula en la cebada rolada. La utilización de surfactante aumentó (P<0.05) la digestibilidad *in vivo* y el consumo de materia seca y observaron menor conversión alimenticia.

Zinn *et al.*<sup>42</sup> evaluaron la influencia de un agente surfactante (Sar Temp<sup>®</sup>) sobre el valor alimenticio del maíz rolado y hojueleado al vapor; registraron un aumento en el contenido de humedad en el grano, esta elevación la asociaron a la cantidad de agua añadida junto con el surfactante previamente a los tratamientos, ya que, con la menor dosis de surfactante no hubo diferencias en el contenido de humedad comparados con las dosis ascendentes; en dicha investigación, no reportaron el tiempo de hidratación del grano, pero en el maíz cocido antes de ser hojueleado observaron un incremento significativo (P<0.05) en el contenido de humedad.

### **1.7.3 GERMINADO DEL GRANO DE SORGO**

La semilla es una planta en reposo. Por lo regular, está sumamente deshidratada, compuesta principalmente de tejido de reserva y rodeada por una cubierta esencialmente impermeable. Los procesos metabólicos están suspendidos o tienen lugar muy lentamente; la semilla está en una condición de vida latente, debido principalmente a su carencia de agua y oxígeno. El proceso de

germinación consiste en la absorción de agua, la reactivación del metabolismo y la iniciación del crecimiento.<sup>47</sup>

Las condiciones climáticas óptimas para que se lleve a cabo el proceso de germinación incluyen humedad, oxígeno, temperatura, y suelo.<sup>6, 10, 17, 48</sup>

El sorgo, como planta originaria de países cálidos, se desarrolla bien con temperaturas altas. La temperatura óptima, durante todo su ciclo, es en promedio 26 °C, pues las plantas a temperaturas inferiores a 15.5 °C no se desarrollan bien, llegando a cesar completamente su crecimiento a 0 °C y a temperaturas superiores a 35 °C, lo que ocasiona que vayan disminuyendo los rendimientos. Para una buena germinación de la semilla, la temperatura debe ser superior a 16 °C.<sup>10, 17, 48</sup>

Aunque el sorgo es muy resistente a las sequías, necesita un mínimo de humedad. Para que pueda germinar y rendir en su producción, es necesaria una precipitación pluvial de 550 a 600 mm. Un exceso de humedad crea las condiciones favorables para el desarrollo de hongos e incluso, para la germinación de la propia semilla, pudriéndose gran cantidad de grano, pues al faltar aire, las plantas detienen su crecimiento, se amarillean y mueren fácilmente.<sup>10</sup>

Al principio, la semilla contiene mucho endospermo, el tejido nutritivo para el embrión. En algunas semillas, gran parte del endospermo puede permanecer después de la germinación, cuando se encarga de la nutrición del embrión en desarrollo.<sup>47</sup> Durante el proceso de germinación, se llevan a cabo diversos cambios.<sup>9</sup> En condiciones favorables, a la imbibición de agua en las semillas siguen muchas actividades. El protoplasma se hidrata y sus enzimas empiezan a funcionar.<sup>48</sup> Cuando el agua penetra al interior del grano, éste se hincha. Al presentarse este fenómeno, se activan diferentes reacciones químicas que inician el crecimiento. El almidón es digerido y se transforma en azúcares; los lípidos, en ácidos grasos y glicerol; y las proteínas, en aminoácidos. La disponibilidad de glucosa permite la liberación de energía por la respiración, el traslado de

nutrientes al embrión y el crecimiento de éste. La respiración de la semilla en estado latente es muy lenta. Incluso es posible que la respiración se detenga en las semillas completamente secas, aún viables. El humedecimiento de las semillas hace que la respiración aumente rápidamente, y cuando la germinación está en marcha, el índice respiratorio se eleva. A consecuencia del aumento de la actividad enzimática, el alargamiento celular comienza en el embrión y nuevamente se pone en marcha el desarrollo de una nueva planta que había empezado con la fecundación.<sup>47</sup> Después de 3 – 4 días, según las especies, de una estructura con unos cientos de células, que medía unos pocos milímetros, se tiene un individuo de millones de células y varios centímetros de altura. Paralelamente a este crecimiento, la planta ha formado tejidos y órganos; ha ocurrido una diferenciación celular y un proceso de morfogénesis.<sup>6</sup>

Van Overbeek citado por Garcidueñas<sup>6</sup> sintetizó el proceso de germinación como sigue: al hidratarse, las células del embrión sintetizan giberelina, que se difunde hacia el endospermo. Allí actúa induciendo la síntesis de amilasas, las reservas de la semilla se hidrolizan y el embrión obtiene glucosa, fuente de energía para el desarrollo. A continuación, el embrión libera citocininas, que estimulan la división de las células de los meristemos apicales y luego, a partir de las reservas de aleurona, se forman aminoácidos y ácido indolacético, cuya inducción hace que las células se alargen mientras el tallo y la raíz crecen. Las auxinas van a inducir la diferenciación de los meristemos.

En casi todas las semillas, el primer órgano que emerge de la cubierta de la semilla es la radícula, o raíz embrionaria. La radícula sale a través del micrópilo y produce la raíz primaria, que a su vez genera pelos radicales y, más tarde, raíces secundarias o laterales. El crecimiento de la raíz, anterior al de otras partes del embrión, permite a la planta joven fijarse en el suelo y absorber agua.<sup>9, 48</sup>

Los cambios químicos que ocurren durante la reconstitución son similares a aquellos que ocurren durante la germinación.<sup>24</sup>

#### 1.7.4 EL PROCESO DE ENSILAJE DEL GRANO DE SORGO

El ensilado es el producto obtenido de la fermentación anaerobia controlada de los alimentos con alto contenido en humedad. El proceso recibe el nombre de ensilaje y el recipiente (bolsa de plástico larga) o construcción en la que se deposita el material se llama silo.<sup>12</sup>

El primer objetivo del ensilaje (esencial para conservar los alimentos por fermentación natural con el mínimo de pérdidas de materia orgánica), es lograr condiciones anaerobias. En la práctica, esta condición se consigue agregando el grano reconstituido, llenando rápidamente el silo en capas homogéneas que se compactan (para la mayor eliminación de aire), hasta que alcanza el volumen final, posteriormente, se debe cerrar y sellar adecuadamente.<sup>12</sup>

El objetivo fundamental del sellado es evitar la reentrada y circulación de aire durante la conservación. Si el oxígeno entra en contacto con el producto durante algún período de tiempo, se origina una actividad microbiana aerobia, el producto se pudre y se convierte en un material sin utilidad, incomedible y generalmente tóxico. Una vez alcanzada la anaerobiosis debido al agotamiento del oxígeno por la respiración celular, las bacterias ácido – lácticas fermentan los azúcares solubles presentes (principalmente glucosa y fructosa), hasta la formación de una mezcla de ácidos, entre los que predomina el ácido láctico. Éste y otros ácidos producidos (acético, propiónico, butírico) incrementan la concentración de hidrogeniones hasta un nivel que inhibe a las bacterias indeseables.<sup>12</sup> Lo anterior ocurre cuando el pH baja a 4.3, con lo cual se inhibe la actividad de putrefacción y se evitan cambios posteriores en la composición química del producto almacenado, al alcanzar la estabilización. Este tratamiento es conveniente para controlar olores y microorganismos patógenos, mejora la palatabilidad, el aspecto del producto y el consumo voluntario; además, la pérdida de nutrientes es relativamente reducida.<sup>11, 38</sup>

Las funciones de los microorganismos en el ensilado son fundamentales. Entre las bacterias a considerar se encuentran las bacterias ácido – lácticas, clostridios y enterobacterias. Además, durante el ensilado también tiene lugar cierta hidrólisis de hemicelulosas, liberándose pentosas que pueden fermentar hasta ácido láctico y acético por las bacterias lácticas. En los ensilados se encuentran bacterias esporuladas del género *Clostridium*, cuyo origen principal es la contaminación con tierra. Los *clostridia* se encuentran en forma de esporas y sólo se multiplican en condiciones anaerobias estrictas; sin embargo, su máximo crecimiento se logra a pH 7 – 7.4, ya que no toleran las condiciones ácidas, de modo que se considera que el pH de 4.2 en los ensilados de buena calidad es suficientemente bajo como para inhibir su crecimiento. Los clostridios pueden dividirse en dos grandes grupos: clostridios sacarolíticos, que fermentan hasta ácido láctico que dan lugar a una elevación de pH; y los clostridios proteolíticos, que fermentan principalmente aminoácidos hasta una serie de productos, que incluyen ácido acético y butírico, aminas y amoníaco.<sup>12</sup>

Las enterobacterias asociadas al ensilado suelen encontrarse en muy pequeña cantidad; al contrario de los *Clostridia*, son anaerobias facultativas y, por tanto, compiten con las bacterias ácido – lácticas por los carbohidratos hidrosolubles, haciéndolos fermentar hasta una mezcla de productos como ácido acético, etanol e hidrógeno. El pH óptimo para el crecimiento de estas bacterias es aproximadamente de 7.0 y suelen ser activas únicamente en las fases iniciales de la fermentación, cuando el pH es favorable para su multiplicación.<sup>12</sup>

Existen cinco fases en el proceso de ensilaje según lo reportado por Tisch:

Fase 1. Material puesto en el silo: las células de las plantas utilizan el oxígeno atrapado para la respiración; hay transformación de algunas proteínas en nitrógeno no proteico.

Fase 2. Microorganismos anaeróbicos empiezan su función: producción de ácido acético a partir de carbohidratos solubles; descenso de pH de 6.2 a 4.2.

Fase 3. Se desarrolla 3 a 5 días después de que el silo fue llenado y sellado: los microorganismos productores de ácido acético dejan de funcionar; los productores de ácido láctico comienzan a producir mayor cantidad a partir de carbohidratos.

Fase 4. Se presenta una acumulación de ácido láctico; disminuye el pH de 4.2 a 3.5 y la temperatura; los microorganismos dejan de producir ácido.

Fase 5. Existe suficiente ácido láctico acumulado: el almacenamiento estable de nutrimentos se alcanza de 15 a 20 días después de llenado el silo.<sup>11</sup>

El proceso del ensilaje ocasiona una proteólisis y un aumento en la cantidad de N amoniacal y de N  $\alpha$ -amino libre en el ensilado, en comparación con el material original. La proporción de nitrógeno potencialmente degradable se reduce, en tanto que el nitrógeno no degradable, que se encuentra ligado a las paredes celulares, permanece casi sin cambios. En general, la degradabilidad de la proteína de los ensilados es alta, encontrándose la mayoría de los valores dentro del intervalo 75 – 85 %.<sup>12</sup>

Con respecto al grano con más de 24 % de humedad, éste se puede ensilar bien y produce un buen alimento para el ganado. Para obtener un producto aceptable se recomienda que la humedad de los granos se sitúe entre 24 y 30 %, además, se recomienda moler el grano para promover una mejor compactación y fermentación.<sup>24</sup>

## JUSTIFICACIÓN

No existen suficientes estudios, sobre el efecto de la temperatura del agua y el uso de surfactantes para reconstituir el grano de sorgo, sin embargo, debido al costo que representa el calentamiento del agua en el proceso de reconstitución industrial del grano y el costo por el uso de surfactantes que favorecen la reconstitución del grano en el proceso de hojueado al vapor, obligan a buscar alternativas de reconstitución que sean posibles de implementar en las unidades de producción pecuaria, con la menor repercusión posible en los costos de producción. Por lo que es necesario identificar las condiciones óptimas para alcanzar el nivel adecuado de humedad del grano para el proceso de reconstitución y germinado. Por otra parte, es posible que con la germinación y ensilaje de grano de sorgo reconstituido se presenten alteraciones en la matriz proteínica de los gránulos de almidón. Sin embargo, se desconoce la fracción de la proteína que se altera. Por estas razones la presente investigación tiene como finalidad contribuir al conocimiento del efecto de dichos tratamientos en las alteraciones sobre el contenido de carbohidratos estructurales y las fracciones de proteína, para ofrecer recomendaciones prácticas que permitan utilizar eficientemente el grano de sorgo en la alimentación de rumiantes.

## **OBJETIVOS**

### **OBJETIVO GENERAL**

En el proceso de reconstitución del grano de sorgo seco, determinar el tiempo de exposición al agua en el que presenta similar contenido de humedad comparativamente a la utilización de distintas temperaturas con y sin el uso de surfactante, a fin de destinar el resultado de reconstitución previamente al ensilaje y la germinación para identificar los cambios en la fracciones de carbohidratos estructurales y proteína.

### **OBJETIVOS ESPECÍFICOS:**

- Determinar el efecto de un agente surfactante y del tiempo de exposición al agua en el contenido de humedad, en grano de sorgo sometido a un proceso de reconstitución.
- Evaluar el efecto de un agente surfactante, del tiempo de exposición al agua y de la temperatura del agua en el contenido de humedad en el grano de sorgo sometido a un proceso de reconstitución.
- Determinar el efecto de distinto contenido de humedad, tamaño de partícula y tiempo de ensilaje en la composición de fracciones de carbohidratos estructurales y proteína, en el grano de sorgo.
- Evaluar el efecto de diferente tiempo de germinación y ensilaje en el contenido de las fracciones de carbohidratos estructurales, y proteína, en el grano de sorgo.

## HIPÓTESIS

- 1) El uso de un agente surfactante, la temperatura y el tiempo de exposición al agua en el proceso de reconstitución del grano de sorgo aumentan el contenido de humedad del grano.
- 2) El tamaño de partícula, contenido de humedad en el grano y el tiempo de ensilaje, modifica las diferentes fracciones de los carbohidratos estructurales y de la proteína en el grano de sorgo reconstituido y ensilado.
- 3) El tiempo de germinación y de ensilaje, modifica las diferentes fracciones de carbohidratos estructurales y de la proteína en el grano de sorgo germinado y ensilado.

## 2. MATERIAL Y MÉTODOS

La investigación constó de cinco experimentos que se desarrollaron en el laboratorio de Bromatología del Departamento de Nutrición Animal y Bioquímica de la FMVZ – UNAM.

### Experimento 1

El objetivo fue evaluar 4 dosis distintas de un agente surfactante (Sar Temp<sup>®</sup>)\* y 4 tiempos de hidratación distintos en la reconstitución del grano de sorgo comercial. Para determinar la cantidad de humedad del grano se utilizó la técnica descrita por Buffo *et al.*<sup>17</sup> a la cual se le hizo la siguiente modificación: para determinar el índice de absorción de humedad, utilizó 10 g de grano y los colocó en vasos de vidrio a los cuales se les agregaron 200 mL de agua destilada y los mantuvo en baño maría con una temperatura constante de 50 °C con distintos tiempos de hidratación, así determinó la tasa inicial de absorción de agua y el punto de saturación de humedad en el grano de sorgo. En la presente investigación, se utilizaron frascos de vidrio de 50 mL de capacidad a los que se les agregó 10 g de grano y una cantidad complementaria de agua a 25 °C, calculada como se describe más adelante.

El surfactante evaluado (Sar Temp<sup>®</sup>)\* se seleccionó por ser el más usado en la reconstitución del grano de maíz previo al procesamiento, y las dosis utilizadas fueron las señaladas por el fabricante.

Como variable de respuesta se midió el contenido de humedad del grano (HUM), por medio de la deshidratación de éste en estufa de aire forzado durante 48 h a 50 °C. Se utilizó un diseño experimental completamente al azar en arreglo factorial: 4 dosis de surfactante (0, 0.09 mL kg<sup>-1</sup>, 0.145 mL kg<sup>-1</sup> y 0.162 mL kg<sup>-1</sup>) x 4 tiempos de hidratación (2, 4, 6 y 8 horas), con 4 repeticiones por tratamiento.

\*Sar Tec corp<sup>®</sup>

Previamente se determinó el porcentaje de materia seca (MS)<sup>49</sup> del grano para obtener la cantidad de agua que se debía agregar a cada frasco. Al obtener en promedio 90 % MS, se realizó el siguiente cálculo de agua<sup>19</sup> para lograr aproximadamente 30 % HUM para la reconstitución:

$$\begin{array}{r} 10\text{g} \text{ ——— } 90 \% \text{ MS} \\ x \text{ ——— } 70 \% \text{ MS} \\ x = 7.78 \text{ g} \\ 10 - 7.78 = 2.22 \text{ g de agua} \end{array}$$

En pruebas preliminares se observó que con este nivel de agua y de surfactante no se alcanzó el 30% de reconstitución, por lo que se reajustó la dosis a 40 % de humedad y se determinó nuevamente el porcentaje de materia seca:

$$\begin{array}{r} 10\text{g} \text{ ——— } 93 \% \text{ MS} \\ x \text{ ——— } 60 \% \text{ MS} \\ x = 6.45 \text{ g} \\ 10 - 6.45 = 3.55 \text{ g de agua} \end{array}$$

En pruebas preliminares, la cantidad de agua calculada no cubrió al grano en su totalidad, por lo que se duplicó la cantidad de agua y se ajustó la cantidad de surfactante para cada dosis, quedando como dosis totales:

- Dosis **0**: 7.1 mL de agua en cada frasco (tratamiento).
- Dosis **1**: 45.6 µL de surfactante en 113.6 mL de agua destilada, agregando 7.1 mL en cada frasco.
- Dosis **2**: 74.2 µL de surfactante en 113.6 mL de agua destilada, agregando 7.1 mL en cada frasco.
- Dosis **3**: 82.9 µL en 113.6 mL de agua destilada, agregando 7.1 mL en cada frasco.

Al término de cada tiempo de hidratación, se colocaron los granos sobre un colador de plástico y se secaron con papel absorbente hasta remover completamente el agua exterior del grano (un minuto aproximadamente). Acto

seguido, los granos se colocaron en vasos de plástico (de peso conocido) y se pesaron en una balanza de precisión\*\*. Las muestras de todos los tratamientos se pusieron a deshidratar en estufa de aire forzado\*\*\* a 50 °C por 48 horas hasta que alcanzaron la pérdida total de agua.

Una vez que las muestras estuvieron completamente deshidratadas, volvieron a pesarse en una balanza granataria y se procedió a determinar la pérdida de humedad durante la deshidratación.

Al término de cada tiempo, se procedió a determinar el contenido de humedad en las muestras.<sup>49</sup>

Los resultados obtenidos se evaluaron a través de un análisis de varianza con el procedimiento PROC GLM de SAS mediante el siguiente modelo estadístico:

$$Y_{ijk} = \mu + A_i + B_j + (AB)_{ij} + \varepsilon_{ijk}$$

Donde:

$Y_{ijk}$  = variable de respuesta en la k-ésima repetición (k= 1, 2, 3, 4 repetición), j –ésimo tiempo de hidratación e i-ésima dosis de surfactante.

$\mu$  = media general.

$A_i$  = efecto de la i-ésima dosis de surfactante (i= 0, 0.09, 0.145 y 0.162 mL de surfactante / kg de sorgo (BH)).

$B_j$  = efecto del j-ésimo tiempo de hidratación (j= 2, 4, 6 y 8 h de hidratación).

$(AB)_{ij}$  = efecto de la interacción de la i-ésima dosis de surfactante por el j-ésimo tiempo de hidratación.

$\varepsilon_{ijk}$  = error aleatorio.

La diferencia entre medias de tratamiento se analizó mediante la prueba de Tukey.<sup>50, 51, 52</sup>

\*\* Explorer Ohaus (corp).

\*\*\* Lindberg / blue M.

## Experimento 2

El objetivo fue evaluar el tiempo en el cual el grano de sorgo alcanza el mayor porcentaje de humedad en el proceso de reconstitución por medio de distintas temperaturas, sin y con surfactante; se utilizaron dos pruebas, ambas con un diseño experimental completamente al azar en arreglo factorial: 5 tiempos de hidratación (2, 4, 6, 8 y 10 horas) x 3 temperaturas (2, 36 y 70 °C) x 4 niveles de surfactante (0, 0.145, 0.290 y 0.435 mL kg<sup>-1</sup>) con 4 repeticiones cada uno. En la primera prueba se utilizó la temperatura señalada en el agua únicamente al inicio, luego los recipientes se mantuvieron a temperatura ambiente. En la segunda prueba se mantuvieron todo el tiempo a temperatura constante. La dosis de surfactante se utilizó en base a los resultados del primer experimento ya que con la dosis (0.145 mL kg<sup>-1</sup>) se registró la mayor humedad, en comparación a las otras dosis utilizadas (0.09 y 0.162 mL kg<sup>-1</sup>). En el presente experimento se utilizaron dosis de surfactante equidistantes (0.145, 0.290 y 0.435 mL kg<sup>-1</sup>).

La dosis de surfactante y la cantidad de agua utilizada para reconstituir 10 g de grano en frascos con capacidad de 50 mL se calcularon por medio de la metodología citada en el primer experimento. El grano fue deshidratado en estufa de aire forzado\*\*\* a 50 °C durante 48 horas hasta la obtención de peso constante registrando un contenido de materia seca de 92 %.

Cálculo del agua necesaria para reconstitución al 70 % MS, 30 % humedad:

$$\begin{array}{r} 10\text{g} \text{ ——— } 92\% \text{MS} \\ x \text{ ——— } 70\% \text{MS} \\ x = 7.61 \text{ g} \\ 10 - 7.61 = 2.39 \text{ g de agua potable} \end{array}$$

\*\*\*Ibid, pág. 35.

Debido a las temperaturas utilizadas (36 y 70 °C) se cuadruplicó la dosis de surfactante y la cantidad de agua potable, para evitar la pérdida de agua por evaporación y determinar el porcentaje de humedad<sup>49</sup> presentado en el grano quedando las dosis totales como sigue:

Dosis **0**: 9.56 mL de agua potable.

Dosis **1**: 5.8 µL = 0.348 mL de surfactante en 573.6 mL de agua potable, agregando 9.56 mL en cada frasco.

Dosis **2**: 11.6 µL = 0.696 mL de surfactante en 573.6 mL de agua potable, agregando 9.56 mL en cada frasco.

Dosis **3**: 17.4 µL = 1.044 mL de surfactante en 573.6 mL de agua potable, agregando 9.56 mL en cada frasco.

Al término de cada tiempo de hidratación, se colocaron los granos sobre un colador de plástico y se secaron con papel absorbente para remover completamente el agua exterior del grano (un minuto aproximadamente). Acto seguido, los granos fueron colocados en vasos de plástico (con peso conocido) y se pesaron en una balanza de precisión\*\*. Las muestras de todos los tratamientos se pusieron a deshidratar en estufa de aire forzado\*\*\* a 50 °C por 48 horas hasta que alcanzaron la pérdida total de agua; una vez que las muestras estuvieron completamente deshidratadas, cada una volvió a pesarse en la balanza y se procedió a determinar la pérdida de humedad durante la deshidratación.<sup>49</sup>

\*\* *Ibid*, pág. 35.

\*\*\* *Ibid*, pág. 35.

Los resultados obtenidos fueron evaluados a través de un análisis de varianza con el procedimiento PROC GLM de SAS mediante el siguiente modelo estadístico:

$$Y_{ijkl} = \mu + A_i + B_j + (AB)_{ij} + C_k + (AC)_{ik} + (BC)_{jk} + (ABC)_{ijk} + \varepsilon_{ij}$$

Donde:

$Y_{ijkl}$  = variable de respuesta en la l-ésima repetición (l = 1, 2, 3, 4 repetición), k-ésima temperatura, j-ésimo tiempo de hidratación e i-ésima dosis de surfactante.

$\mu$  = media general.

$A_i$  = efecto de la i-ésima dosis de surfactante (i = 0, 0.145, 0.290 y 0.435 mL de surfactante / kg de sorgo (BH)).

$B_j$  = efecto del j-ésimo tiempo de hidratación (j = 2, 4, 6, 8 y 10 h de hidratación).

$C_k$  = efecto de la k-ésima temperatura (k = 2, 36 y 70 °C).

$(AB)_{ij}$  = efecto de la interacción de la i-ésima dosis de surfactante por el j-ésimo tiempo de hidratación.

$(AC)_{ik}$  = efecto de la interacción de la i-ésima dosis de surfactante por la k-ésima temperatura.

$(BC)_{jk}$  = efecto de la interacción del j-ésimo tiempo de hidratación por la k-ésima temperatura.

$(ABC)_{ijk}$  = efecto de la triple interacción: i-ésima dosis de surfactante por el j-ésimo tiempo de hidratación por la k-ésima temperatura.

$\varepsilon_{ijk}$  = error aleatorio.

La diferencia entre medias de tratamiento se analizó mediante la prueba de Tukey.<sup>50, 51, 52</sup>

### **Experimento 3**

De acuerdo con los resultados de los experimentos anteriores se redujo el intervalo del tiempo de hidratación del grano de sorgo, para obtener el menor tiempo al que se logra la mayor humedad en el proceso de reconstitución utilizando la dosis de surfactante que presentó un incremento en el porcentaje de humedad.

Se utilizó un diseño completamente al azar con arreglo factorial: 5 tiempos de humectación (0.5, 1, 1.5, 2 y 2.5 h) x 2 dosis de surfactante (0 y 0.290 mL kg<sup>-1</sup>) con 1 temperatura (70 °C) y cuatro repeticiones por tratamiento.

Al término de cada tiempo de hidratación, los granos se colocaron sobre un colador de plástico y se secaron con papel absorbente para remover completamente el agua exterior del grano (un minuto aproximadamente). Acto seguido, los granos fueron colocados en vasos de plástico (con peso conocido) y se pesaron en una balanza de precisión\*\*. Las muestras de todos los tratamientos se pusieron a deshidratar en estufa de aire forzado\*\*\* a 50 °C por 48 horas hasta que alcanzaron la pérdida total de agua. Una vez que las muestras estuvieron completamente deshidratadas, éstas volvieron a pesarse en la balanza y se procedió a determinar el contenido de humedad.<sup>49</sup>

Los resultados obtenidos se evaluaron a través de un análisis de varianza con el procedimiento PROC GLM de SAS mediante el siguiente modelo estadístico:

$$Y_{ijk} = \mu + A_i + B_j + (AB)_{ij} + \epsilon_{ij}$$

Donde:

$Y_{ijk}$  = variable de respuesta en la k-ésima repetición (k = 1, 2, 3, 4 repetición), j-ésima dosis de surfactante e i-ésimo tiempo de hidratación.

$\mu$  = media general.

$A_i$  = efecto del i-ésimo tiempo de hidratación (i = 0.5, 1, 1.5, 2 y 2.5 h).

$B_j$  = efecto de la j-ésima dosis de surfactante (j = 0 y 0.290 mL se surfactante / kg de sorgo (BH)).

$(AB)_{ij}$  = efecto de la interacción del i-ésimo tiempo de hidratación por la j-ésima dosis de surfactante.

$\epsilon_{ij}$  = error aleatorio.

La diferencia entre medias de tratamiento se analizó mediante la prueba de Tukey.<sup>50, 51, 52</sup>

\*\* *ibid*, pág. 35.

\*\*\* *ibid*, pág. 35.

## Experimento 4

Como el precio de los combustibles o de la electricidad en el país es elevado, mantener la temperatura constante a 70 °C durante el proceso de reconstitución aumenta el costo del grano procesado. En el presente experimento el grano de sorgo se humedeció durante 6 horas con agua a temperatura ambiente sin surfactante obteniendo un adecuado contenido de humedad para la reconstitución (> 27 %).

Se evaluó el efecto del tamaño de partícula durante el proceso de reconstitución con tres niveles de humedad y tres tiempos de ensilaje sobre la composición de las fracciones de carbohidratos estructurales (FDN y FDA) y proteína (A, B1, B2, B3 y C) del grano de sorgo. Como unidad experimental se utilizaron botes de polietileno con capacidad de 2 kg, aproximadamente, con válvula de Bunsen en la tapa de rosca para extraer el aire con una bomba de vacío. Se elaboraron microsilos, siguiendo la metodología descrita por Hernández<sup>19</sup> con grano de sorgo comercial. El grano fue compactado a una densidad de aproximadamente 300 kg de MS/m<sup>3</sup>. Los microsilos se almacenaron a temperatura ambiente (25 a 27 °C) en un lugar oscuro.

Se utilizó un diseño completamente al azar en arreglo factorial: 2 tamaños de partícula (grano entero y quebrado, con fragmentación aproximada de 10 partículas por grano) x 3 niveles de humedad (25, 30 y 35 %) x 3 tiempos de almacenaje (0, 21 y 42 días) con 4 repeticiones por tratamiento. Cuando los microsilos se abrieron, se desechó la capa superficial (aproximadamente 5 cm) y se extrajo una cantidad de 150 g de la parte del centro de cada microsilo. Las muestras se homogeneizaron y envasaron en bolsas de polietileno sellables y se congelaron a -20 °C para su posterior análisis. Las muestras se deshidrataron en estufa de aire forzado\*\*\* a 55°C; posteriormente, se molieron en molino Wiley con malla de 1 mm.

\*\*\* *Ibid*, pág. 35.

Las muestras se utilizaron para la realización de los siguientes análisis: proteína cruda (PC)<sup>53</sup>, fibra detergente neutro (FDN)<sup>54</sup>, fibra detergente ácido (FDA)<sup>54</sup> y fracciones de la proteína (A, B1, B2, B3, C)<sup>5, 39, 41</sup>.

Los resultados obtenidos se evaluaron a través de un análisis de varianza con el procedimiento PROC GLM de SAS mediante el siguiente modelo estadístico:

$$Y_{ijkl} = \mu + A_i + B_j + (AB)_{ij} + C_k + (AC)_{ik} + (BC)_{jk} + (ABC)_{ijk} + E_{ijkl}$$

Donde:

$Y_{ijkl}$  = variable de respuesta en la  $l$ -ésima repetición ( $l = 1, 2, 3, 4$  repetición),  $k$ -ésimo tiempo de almacenaje,  $j$ -ésimo porcentaje de humedad e  $i$ -ésimo tamaño de partícula.

$\mu$  = media general.

$A_i$  = efecto del  $i$ -ésimo tamaño de partícula ( $i =$  tamaño de partícula (entero y quebrado)).

$B_j$  = efecto del  $j$ -ésimo porcentaje de humedad ( $j = 25, 30$  y  $35\%$  de humedad).

$C_k$  = efecto de  $k$ -ésimo tiempo de ensilaje ( $k = 0, 21$  y  $42$  días de ensilaje).

$(AB)_{ij}$  = efecto de la interacción del  $i$ -ésimo tamaño de partícula por el  $j$ -ésimo porcentaje de humedad.

$(AC)_{ik}$  = efecto de la interacción del  $i$ -ésimo tamaño de partícula por el  $k$ -ésimo tiempo de ensilaje.

$(BC)_{jk}$  = efecto de la interacción del  $j$ -ésimo porcentaje de humedad por el  $k$ -ésimo tiempo de ensilaje.

$(ABC)_{ijk}$  = efecto de la triple interacción del  $i$ -ésimo tamaño de partícula por el  $j$ -ésimo porcentaje de humedad por el  $k$ -ésimo tiempo de ensilaje.

$E_{ijkl}$  = error aleatorio.

La diferencia entre medias de tratamientos se analizó mediante la prueba de Tukey.<sup>50, 51, 52</sup>

## Experimento 5

Se evaluó el proceso de germinación y ensilaje sobre la composición de las fracciones de carbohidratos estructurales (FDN y FDA) y de proteína (A, B1, B2, B3 y C) del grano de sorgo.

Para llevar a cabo el proceso de germinación, el grano de sorgo se remojó en una solución de hipoclorito de sodio al 0.6 % durante 24 h para evitar la presencia y contaminación de los granos por hongos que podrían afectar la composición físico – química del grano y, posteriormente, del ensilado. Después del tratamiento con hipoclorito, los granos se enjuagaron con abundante agua con el fin de eliminar el exceso de solución. Se procedió a sembrar 1500 g de sorgo, aproximadamente, en una capa delgada (< a 1 cm) sobre charolas de aluminio de 26 cm de ancho por 34 cm de largo, con un área de 884 cm<sup>2</sup>, con el fondo recubierto con plástico. Se dejó germinar el grano durante 0, 2, 4 y 6 días. Los granos se cubrieron con franelas húmedas para evitar su posible deshidratación. Cada charola fue regada diariamente con 60 – 70 mL de agua potable.

Para realizar los microsilos se emplearon botes de polietileno, con una altura de 15 cm y un ancho de 9 cm, con capacidad de 1 kg, aproximadamente. Los microsilos se compactaron a una densidad de aproximadamente 300 kg de MS/m<sup>3</sup>. A cada microsilo se le colocó una válvula de Bunsen en la tapa de rosca para extraerle el aire con una bomba de vacío. Se almacenaron a temperatura ambiente (25 a 27 °C) en un lugar oscuro.

Se utilizó un diseño completamente al azar con arreglo factorial: 4 tiempos de germinación (0, 2, 4 y 6 días) x 3 tiempos de ensilaje (21, 42 y 63 días), con 4 repeticiones por tratamiento.

Al abrir cada microsilo se desechó la capa superficial (aproximadamente 5 cm) y se tomó una muestra del centro, la cual se homogeneizó. Posteriormente, las

muestras se envasaron en bolsas de polietileno sellables y se congelaron (- 20 °C) para su posterior análisis.

Las muestras se deshidrataron en estufa de aire forzado\*\*\* a 50 – 55 °C, se molieron en un molino Wiley con criba de 1mm. Posteriormente, se les efectuaron los siguientes análisis: PC<sup>53</sup>, FDN<sup>54</sup>, FDA<sup>54</sup> y fracciones de la proteína.<sup>5, 39, 41</sup>

Los resultados obtenidos fueron evaluados a través de un análisis de varianza con el procedimiento PROC GLM de SAS mediante el siguiente modelo estadístico:

$$Y_{ijk} = \mu + A_i + B_j + (AB)_{ij} + \varepsilon_{ij}$$

Donde:

$Y_{ijk}$  = variable de respuesta en la k-ésima repetición (k = 1, 2, 3, 4 repetición),

j – ésimo tiempo de ensilaje e i-ésimo tiempo de germinación.

$\mu$  = media general.

$A_i$  = efecto del tiempo de germinación (i = 0, 2, 4 y 6 días de germinación).

$B_j$  = efecto del j – ésimo tiempo de ensilaje (j = 21, 42 y 63 días de ensilaje).

$(AB)_{ij}$  = efecto de la interacción del i-ésimo tiempo de germinación por el j-ésimo tiempo de ensilaje.

$\varepsilon_{ij}$  = error aleatorio.

La diferencia entre medias de tratamiento se analizó mediante la prueba de Tukey.<sup>50, 51, 52</sup>

Los resultados de fracciones de proteína se analizaron por el análisis de correlación de Pearson con el programa SPSS.<sup>50, 51, 55</sup>

\*\*\*Ibid, pág. 35.

### 3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

#### Experimento 1

En el presente estudio, el porcentaje de humedad inicial en el grano de sorgo ( $6.28 \pm 0.34$  %) fue menor al promedio (11 %) que la literatura señala en distintos cuadros de composición de alimentos (NRC 2000; 2007)<sup>56, 57</sup> y menor también a la humedad que se consigue para algunos sorgos cosechados en México que, de acuerdo con Shimada<sup>58</sup> se encuentran generalmente entre el intervalo de 11 a 13 % de humedad.

En el presente estudio se empleó este grano con bajo contenido de humedad para evitar que una elevada humedad inicial interfiriera con la absorción de agua.

El análisis de varianza (Cuadro 4) indicó que el tiempo fue significativo ( $P < 0.01$ ) para la hidratación del grano de sorgo. En el Cuadro 5 se presentan los resultados de dosis de surfactante y tiempo de hidratación. La dosis no afectó el grado de hidratación del grano de sorgo, pero si el tiempo de hidratación.

Cuadro 4. Análisis de varianza por efecto dosis de surfactante y tiempo de hidratación sobre el contenido de humedad (%) en grano de sorgo

Fuente de variación	G L	C M	F	P
Dosis	3	0.0194	1.04	0.3813
Tiempo	3	1.6582	89.28	0.0001
Dosis x tiempo	9	0.0218	1.18	0.3312
Error	48	0.0185		
Total	63			

El mayor contenido de humedad (26.08 %) se registró a las 6 h de tiempo de hidratación, con resultados intermedios y similares en los tratamientos con 4 y 8 horas de hidratación (24 %). El menor porcentaje de absorción de humedad se registró a las 2 horas de hidratación.

Como puede observarse, a las 8 h el contenido de humedad disminuyó (Cuadro 5). Lobato *et al.*<sup>59</sup> atribuyeron la disminución en la absorción de agua al transcurrir el tiempo a la reducción del volumen de agua disponible en comparación con la cantidad inicial. La diferencia afecta la absorción, que se vuelve más lenta.

Cuadro 5. Efecto de dosis de surfactante y tiempo de hidratación sobre el contenido de humedad (%) en grano de sorgo

DOSIS (mL kg <sup>-1</sup> )				EEM	TIEMPO (h)				EEM
0	0.09	0.145	0.162		2	4	6	8	
23.62 <sup>a</sup>	23.04 <sup>a</sup>	22.79 <sup>a</sup>	23.62 <sup>a</sup>	0.0001	18.56 <sup>c</sup>	23.97 <sup>b</sup>	26.08 <sup>a</sup>	24.05 <sup>b</sup>	0.0001

<sup>a, b, c</sup> Diferentes literales entre columnas indican diferencia significativa, P<0.05.  
EEM = error estándar de la media.

Buffo *et al.*<sup>17</sup> obtuvieron dos curvas de absorción de humedad correspondientes a dos híbridos de grano de sorgo. Las curvas mostraron rápida absorción de agua durante la primera hora; sin embargo, el punto medio de saturación (50 %) lo obtuvieron a las 2 horas, y el punto máximo de saturación, entre las 7 y 8.5 horas de reconstitución del grano. Estos resultados concuerdan con los del presente experimento.

Por su parte, Smith y Nash, citados por Hsu *et al.*<sup>60</sup> midieron la absorción de agua de la soya americana y japonesa y observaron que el principal factor de control en la absorción de agua es la cubierta de la semilla. Además, concluyeron que la tasa de absorción de agua está influida por el contenido inicial de humedad en los granos.

El uso de surfactante en este experimento no influyó en el grado de hidratación del grano de sorgo. Sin embargo, algunos investigadores han señalado que el uso de un agente surfactante facilitó el proceso de reconstitución del grano de sorgo<sup>44</sup> o de maíz.<sup>42, 45</sup>

En estos estudios es importante señalar que el agente surfactante se adicionó previo al hojueleado al vapor del grano. La temperatura de pre-acondicionamiento, entonces, influyó en el efecto del surfactante para incrementar la absorción de humedad.

## Experimento 2

### Prueba (A) con temperatura inicial en el agua según tratamiento

En el Cuadro 6 se presenta el análisis de varianza con los efectos considerados para este experimento. Puede observarse que las dobles interacciones dosis de surfactante x tiempo de hidratación y tiempo de hidratación x temperatura fueron significativas ( $P < 0.0001$ ).

Cuadro 6. Análisis de varianza para evaluar la hidratación del grano de sorgo por efecto de surfactante (Surf), tiempo de hidratación (Th) y temperatura inicial del agua (Ti)

Fuente de variación	G L	C M	F	P
Surf	3	16.8194	27.89	0.0001
Th	4	183.4311	304.17	0.0001
Ti	2	11.9184	19.76	0.0001
Surf x Th	12	20.9933	34.81	0.0001
Surf x Ti	6	1.0237	1.70	0.1239
Th x Ti	8	6.2040	10.29	0.0001
Surf x Th x Ti	24	0.8785	1.46	0.0873
Error	180	0.6030		
Total	239			

El Cuadro 7 muestra el efecto de dosis de surfactante y tiempo de hidratación en la humedad final del grano de sorgo. Los mejores resultados se obtuvieron sin surfactante a 6 u 8 horas de hidratación (27.6 % HUM); con 0.145 mL kg<sup>-1</sup> de surfactante a 6 u 8 horas de hidratación (27.7 % HUM), y con 0.290 ó 0.435 mL kg<sup>-1</sup> de surfactante con 10 horas de hidratación (27.5 % HUM).

Cuadro 7. Contenido de humedad (%) en el grano de sorgo por efecto de surfactante y tiempo de hidratación

DOSIS (mL kg <sup>-1</sup> )	TIEMPO (h)									
	2	DE	4	DE	6	DE	8	DE	10	DE
0	22.05 <sup>f</sup>	± 0.93	22.92 <sup>d,e,f</sup>	± 1.02	27.57 <sup>a,b</sup>	± 1.18	27.54 <sup>a,b</sup>	± 1.37	23.97 <sup>d,e</sup>	± 0.62
0.145	21.67 <sup>f</sup>	± 1.35	23.08 <sup>d,e,f</sup>	± 1.16	27.90 <sup>a</sup>	± 1.11	27.59 <sup>a,b</sup>	± 1.20	24.15 <sup>d</sup>	± 0.43
0.290	22.71 <sup>e,f</sup>	± 0.88	25.77 <sup>c</sup>	± 0.99	26.00 <sup>c</sup>	± 0.74	26.23 <sup>b,c</sup>	± 0.59	27.46 <sup>a,b</sup>	± 0.83
0.435	22.90 <sup>d,e,f</sup>	± 0.90	26.00 <sup>c</sup>	± 0.92	26.54 <sup>a,b,c</sup>	± 0.76	26.33 <sup>b,c</sup>	± 0.59	27.52 <sup>a,b</sup>	± 1.22

a, b, (...), e, f Diferentes literales entre tratamientos indican diferencia significativa, P<0.05

DE = Desviación estándar

En el Cuadro 8 se muestra el efecto de la temperatura inicial del agua y el tiempo de hidratación a la humedad final del grano de sorgo, que alcanzó los niveles más elevados a las 6 u 8 horas de hidratación, independientemente de la temperatura inicial del agua.

Cuadro 8. Efecto de la temperatura y tiempo de hidratación (h) sobre el contenido de humedad (%) en el grano de sorgo

TEMPERATURA (°C)	TIEMPO (h)									
	2	DE	4	DE	6	DE	8	DE	10	DE
2	21.58 <sup>f</sup>	± 0.14	23.59 <sup>d,e</sup>	± 1.54	27.01 <sup>a,b</sup>	± 1.18	26.88 <sup>a,b</sup>	± 1.10	25.83 <sup>a,b</sup>	± 1.80
36	22.15 <sup>e,f</sup>	± 0.74	24.05 <sup>c,d</sup>	± 1.71	26.54 <sup>a,b</sup>	± 1.20	27.24 <sup>a,b</sup>	± 1.24	25.94 <sup>a,b</sup>	± 2.13
70	23.26 <sup>d,e,f</sup>	± 0.70	25.70 <sup>b,c</sup>	± 1.37	27.45 <sup>a</sup>	± 1.18	26.65 <sup>a,b</sup>	± 1.15	25.50 <sup>b,c</sup>	± 1.92

a, b, c, d, e, f Diferentes literales entre tratamientos indican diferencia significativa, P<0.05

DE = Desviación estándar

De este experimento se concluye que 6 horas de hidratación en agua fría, a temperatura corporal o caliente, sin surfactante son suficientes para alcanzar un 27 % de humedad en el grano de sorgo. La humedad inicial del grano utilizado fue de 7 % en promedio, lo que significó un aumento de 20 puntos porcentuales o 386 % de humedad.

Estos resultados difieren de los realizados por McAllister *et al.*<sup>46</sup> quienes evaluaron el procesado en frío de grano de cebada con un agente surfactante en diversos tiempos de exposición y a diferentes dosis. Estos autores concluyeron que la adición del agente surfactante apresuró la absorción de humedad en las primeras 2 horas.

### **Prueba (B) con temperatura constante en el agua según tratamiento**

El Cuadro 9 presenta el análisis de varianza para este experimento. Todas las variables e interacciones resultaron altamente significativas ( $P < 0.0001$ ), por lo que se discutirá la triple interacción, cuyos resultados pueden observarse en el Cuadro 10.

Cuadro 9. Análisis de varianza para evaluar la hidratación del grano de sorgo por efecto de surfactante (Surf), tiempo de hidratación (Th) y temperatura constante del agua (Tc)

Fuente de variación	G L	C M	F	P
Surf	3	225.9241	221.78	0.0001
Th	4	57.2242	56.17	0.0001
Tc	2	2388.423	2344.63	0.0001
Surf x Th	12	22.2415	21.83	0.0001
Surf x Tc	6	11.5596	11.35	0.0001
Th x Tc	8	14.3721	14.11	0.0001
Surf x Th x Tc	24	2.8771	2.81	0.0001
Error	180	1.0187		
Total	239			

La hidratación obtenida (34.5 %) a 70 °C con 8 h y una dosis de 0.290 no fue estadísticamente diferente del mismo tratamiento a 2, 4, 6, ó 10 horas de hidratación. Así mismo, la dosis más alta de surfactante a 70°C de agua y 6 horas de hidratación se encuentran resultados estadísticamente iguales a los anteriores. Las mayores cantidades de humedad (33.53% en promedio) se obtuvieron con las dosis de 0.145 y 0.435 mL a 70 °C.

Los menores porcentajes de humedad promediaron 17.89 % y se registraron en todos los tratamientos cuando la temperatura constante fue de 2 °C. Por lo anterior, se concluye que las condiciones de temperatura del agua utilizada para el tratamiento son determinantes para conseguir un mayor porcentaje de reconstitución del grano de sorgo.

Cuadro 10. Contenido de humedad (%) en el grano de sorgo tratado con cuatro dosis de surfactante, cinco tiempos de hidratación y tres temperaturas constantes del agua

TRATAMIENTO		TIEMPO (h)				
DOSIS (mL kg <sup>-1</sup> )	T. const. (°C)	2	4	6	8	10
0	2	17.11 <sup>z</sup>	19.17 <sup>v,w,x,y,z</sup>	18.58 <sup>x,y,z</sup>	18.13 <sup>y,z</sup>	19.53 <sup>u,v,w,x,y,z</sup>
	36	23.67 <sup>m,n,o,p,q,r,s</sup>	26.40 <sup>i,j,k,l,m</sup>	28.50 <sup>g,h,i</sup>	23.66 <sup>m,n,o,p,q,r,s</sup>	24.30 <sup>l,m,n,o,p,q,r,s</sup>
	70	27.23 <sup>h,i,j,k,l</sup>	31.47 <sup>b,c,d,e,f</sup>	32.25 <sup>a,b,c,d</sup>	24.50 <sup>l,m,n,o,p,q</sup>	26.48 <sup>i,j,k,l,m</sup>
0.145	2	17.61 <sup>y,z</sup>	19.52 <sup>u,v,w,x,y,z</sup>	17.99 <sup>y,z</sup>	18.99 <sup>v,w,x,y,z</sup>	18.38 <sup>y,z</sup>
	36	23.35 <sup>n,o,p,q,r,s,t</sup>	26.27 <sup>i,j,k,l,m,n</sup>	25.40 <sup>j,k,l,m,n,o</sup>	23.43 <sup>n,o,p,q,r,s,t</sup>	23.27 <sup>o,p,q,r,s,t</sup>
	70	28.16 <sup>h,i,j</sup>	31.25 <sup>b,c,d,e,f,g</sup>	29.19 <sup>e,f,g,h,i</sup>	25.49 <sup>j,k,l,m,n,o</sup>	25.38 <sup>j,k,l,m,n,o</sup>
0.290	2	18.19 <sup>y,z</sup>	20.50 <sup>t,u,v,w,x,y</sup>	21.40 <sup>s,t,u,v,w,x</sup>	23.26 <sup>o,p,q,r,s,t</sup>	21.86 <sup>p,q,r,s,t,u,v</sup>
	36	24.41 <sup>l,m,n,o,p,q,r</sup>	27.53 <sup>h,i,j,k</sup>	28.58 <sup>f,g,h,i</sup>	29.04 <sup>e,f,g,h,i</sup>	29.21 <sup>e,f,g,h,i</sup>
	70	31.99 <sup>a,b,c,d,e</sup>	33.81 <sup>a,b</sup>	32.62 <sup>a,b,c</sup>	34.49 <sup>a</sup>	32.72 <sup>a,b</sup>
0.435	2	18.65 <sup>w,x,y,z</sup>	19.41 <sup>u,v,w,x,y,z</sup>	21.51 <sup>r,s,t,u,v,w,x</sup>	22.15 <sup>p,q,r,s,t,u</sup>	21.62 <sup>q,r,s,t,u,v,w</sup>
	36	24.81 <sup>k,l,m,n,o,p</sup>	27.07 <sup>h,i,j,k,l</sup>	28.34 <sup>g,h,i,j</sup>	28.78 <sup>f,g,h,i</sup>	29.47 <sup>d,e,f,g,h</sup>
	70	29.70 <sup>c,d,e,f,g,h</sup>	33.27 <sup>a,b</sup>	33.74 <sup>a,b</sup>	34.02 <sup>a,b</sup>	32.67 <sup>a,b</sup>
EEM		±0.24	±0.33	±0.94	±0.37	±0.30

a, b, c, (...), x, y, z Diferentes literales entre tratamientos indican diferencia significativa, P<0.05

EEM = error estándar de la media

### Experimento 3

El Cuadro 11 muestra el análisis de varianza del experimento 3. Cuando la temperatura del agua se mantuvo constante a 70°C durante todo el proceso de reconstitución, se observó interacción de dosis de surfactante por tiempo de hidratación ( $P = 0.0027$ ). El análisis indicó que sin surfactante se alcanzó una mayor humedad en el grano (28.4 %) que con 0.290 mL kg<sup>-1</sup> (27.7 %) (Cuadro 12).

Cuadro 11. Análisis de varianza para evaluar la hidratación del grano de sorgo por efecto de dosis de surfactante y tiempo de hidratación con temperatura constante del agua

Fuente de variación	G L	C M	F	P
Dosis	1	0.0004	31.54	0.0001
Tiempo	4	0.0161	1379.09	0.0001
Dosis x tiempo	4	0.0001	5.18	0.0027
Error	30	0.0000		
Total	39			

Asimismo, el efecto lineal de tiempo fue significativo ( $P < 0.01$ ) y a mayor tiempo de exposición del grano de sorgo al tratamiento, se logró una mayor hidratación. A las 2.5 horas de exposición con el agua a 70 °C, el grano de sorgo alcanzó 33.71 % de humedad (Cuadro 12).

Cuadro 12. Efecto de la dosis de surfactante y del tiempo de exposición al tratamiento en la hidratación del grano de sorgo

DOSIS (mL kg <sup>-1</sup> )	TIEMPO (h)									
	0.5	DE	1	DE	1.5	DE	2	DE	2.5	DE
0	21.64 <sup>g</sup>	± 0.25	26.69 <sup>f</sup>	± 0.37	30.02 <sup>d</sup>	± 0.20	31.64 <sup>c</sup>	± 0.39	33.71 <sup>a</sup>	± 0.37
0.290	21.77 <sup>g</sup>	± 0.38	26.41 <sup>f</sup>	± 0.40	28.80 <sup>e</sup>	± 0.50	31.03 <sup>c</sup>	± 0.31	32.66 <sup>b</sup>	± 0.17

a, b, (...), f, g Diferentes literales entre tratamientos indican diferencia significativa,  $P < 0.05$   
D E = desviación estándar

Este experimento confirmó que el porcentaje de humedad adecuado para reconstitución (>28 %) se obtuvo a partir de 1.5 horas cuando la temperatura

del agua se mantuvo constante a 70 °C, efecto que fue más determinante para la reconstitución que el uso del surfactante.

Hsu *et al.*<sup>60</sup> observaron que utilizando agua a 20 °C, al frijol de soya le tomó alrededor de 10.5 h para llegar a 90 % de la absorción total de humedad; con agua a 30°C, este mismo nivel de absorción se alcanzó aproximadamente a las 6 h, y cuando se utilizó agua a 50°C, el mismo nivel de humedad se logró en tan sólo 2.5 h. Estos resultados concuerdan con los de este experimento.

## **Experimento 4**

### **Carbohidratos estructurales**

En la presente investigación el grano de sorgo utilizado mostró un contenido de FDN entre 4 y 6 %, estos resultados fueron menores a lo reportado por Rodríguez *et al.*<sup>61</sup> quien utilizó espectroscopía de reflectancia en el infrarrojo cercano (NIRS, por sus siglas en inglés) en un estudio en el que evaluaron 216 muestras de grano de sorgo entero sin procesar, correspondiente a las cosechas de los años 1996, 1997 y 1998. La concentración de la cosecha de 1996 presentó un intervalo entre 11.6 y 17.4 % FDN. La mayor variabilidad se obtuvo el año 1997 (6.3 – 17.2 % FDN) y 1998 (8.3 – 22.9 % FDN). Esa variación se asoció a las variedades o híbridos estudiados y a las condiciones agroecológicas en los cuales fueron obtenidas las muestras.

El Cuadro 13 muestra el análisis de varianza para la fracción de FDN. Las dobles interacciones entre los diferentes parámetros en estudio fueron significativas ( $P < 0.0001$ ). El único efecto que no fue estadísticamente significativo ( $P > 0.05$ ) es la triple interacción tamaño de partícula x contenido de humedad x tiempo de ensilaje. Los cuadros 14 a 16 presentan los resultados de esas interacciones.

Cuadro 13. Análisis de varianza para los efectos de tamaño de partícula (Tp), humedad (Hum) y tiempo de ensilaje (Te) sobre el contenido de FDN del grano de sorgo

Fuente de variación	G L	C M	F	P
Tp	1	0.0548	59.38	0.0001
Hum	2	0.0093	10.04	0.0002
Te	2	0.0392	42.53	0.0001
Tp x Hum	2	0.0105	11.37	0.0001
Tp x Te	2	0.0093	10.08	0.0002
Hum x Te	4	0.0407	44.09	0.0001
Tp x Hum x Te	4	0.0019	2.10	0.0940
Error	54	0.0009		
Total	71			

En el caso de la interacción Tp x Hum (Cuadro 14), la concentración de FDN fue similar entre los diferentes tratamientos de humedad cuando el grano estaba quebrado, pero los valores fueron menores con el grano entero con 25 o 30 % de humedad como puede observarse en la Figura 6.

Cuadro 14. Contenido de FDN (%) en el grano de sorgo entero y quebrado con tres porcentajes de humedad

Hum (%)	Tamaño de partícula			
	Entero	DE	Quebrado	DE
25	5.36 <sup>a,b</sup>	± 0.44	6.00 <sup>a</sup>	± 0.59
30	4.93 <sup>b</sup>	± 0.81	5.84 <sup>a</sup>	± 0.97
35	5.71 <sup>a,b</sup>	± 0.75	5.81 <sup>a</sup>	± 0.42

<sup>a, b</sup> Diferentes literales entre tratamientos indican diferencia significativa, P<0.05  
DE = desviación estándar

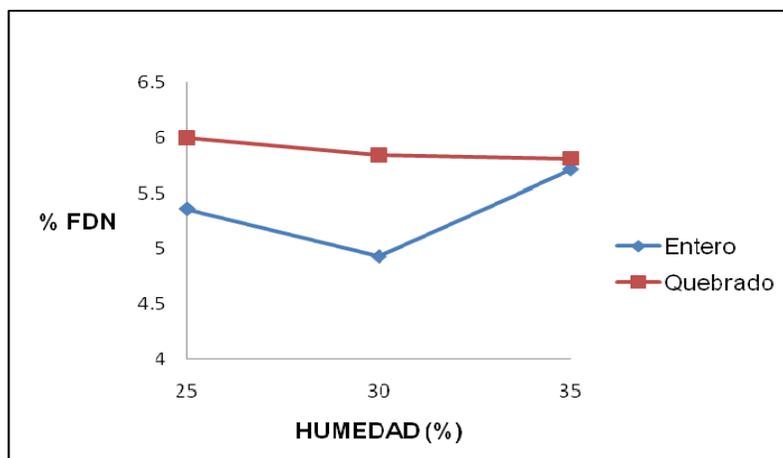


Figura 6. Contenido de FDN (%) en el grano de sorgo por efecto de tamaño de partícula y humedad

En el caso de la interacción entre el tamaño de partícula (entero o quebrado) y el tiempo de ensilaje (Cuadro 15), los menores valores de FDN para grano entero o quebrado se encontraron a los 21 días de ensilaje, y a los 42 días de ensilaje con grano entero (Figura 7).

Cuadro 15. Contenido de FDN (%) en el grano de sorgo entero y quebrado con diferente tiempo de ensilaje

Tiempo de ensilaje	Tamaño de partícula			
	Entero	DE	Quebrado	DE
0	5.71 <sup>a,b,c</sup>	± 0.30	6.37 <sup>a</sup>	± 0.40
21	5.18 <sup>c</sup>	± 1.16	5.30 <sup>b,c</sup>	± 0.60
42	5.12 <sup>c</sup>	± 0.30	6.00 <sup>a,b</sup>	± 0.56

<sup>a, b, c</sup> Diferentes literales entre tratamientos indican diferencia significativa, P<0.05  
DE = desviación estándar

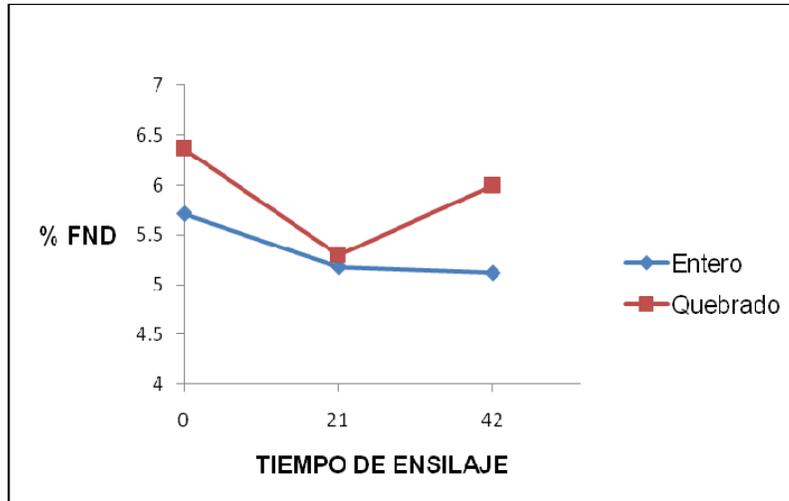


Figura 7. Contenido de FDN (%) en el grano de sorgo por efecto del tamaño de partícula y tiempo de ensilaje

Cuando la interacción fue entre humedad y tiempo de ensilaje (Cuadro 16), la menor concentración de FDN se encontró en grano de sorgo con 30 % de humedad y ensilado durante 21 días. En la Figura 8 puede observarse el efecto de la humedad y ensilaje sobre el porcentaje de FND.

Cuadro 16. Contenido de FDN (%) en el grano de sorgo con tres niveles de humedad y tres tiempos de ensilaje

Tiempo de ensilaje (días)	Humedad (%)					
	25	DE	30	DE	35	DE
0	6.24 <sup>a</sup>	± 0.50	5.93 <sup>a,b,c</sup>	± 0.55	5.95 <sup>a,b,c</sup>	± 0.37
21	5.33 <sup>b,c</sup>	± 0.37	4.23 <sup>d</sup>	± 0.39	6.15 <sup>a</sup>	± 0.52
42	5.48 <sup>a,b,c</sup>	± 0.51	6.00 <sup>a,b</sup>	± 0.70	5.18 <sup>c</sup>	± 0.40

a, b, c, d Diferentes literales entre tratamientos indican diferencia significativa, P<0.05  
DE = desviación estándar

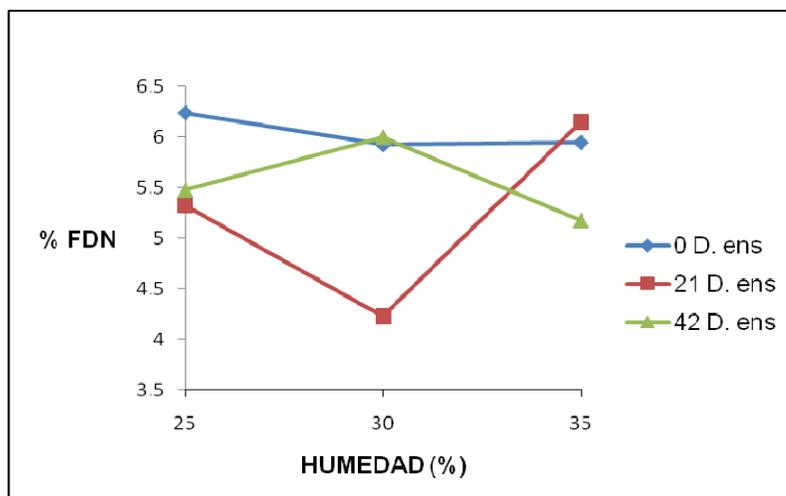


Figura 8. Contenido de FDN (%) en el grano de sorgo por diferente nivel de humedad y tiempo de ensilaje

Es probable que estos resultados reflejen más el método de análisis de laboratorio (Anexo 1.4) que el efecto de las variables estudiadas. En la técnica utilizada se agregó sulfito de sodio. Weiss *et al.*<sup>62</sup> opinan que el sulfito de sodio puede disminuir la concentración de FDN. Asimismo, Van Soest *et al.*<sup>63</sup> mencionan que al incubar las muestras durante toda la noche con amilasa pueden degradarse componentes hemicelulolíticos, dando por resultado valores bajos de FDN. Probablemente por estas razones el contenido de FDN en este estudio fue inferior al que señalan los cuadros de composición de alimentos.

En el Cuadro 17 se presenta el análisis de varianza para la fracción FDA. Los efectos principales y todas las interacciones fueron estadísticamente significativas ( $P < 0.0001$ ), por lo que en el Cuadro 18 se presentan los resultados de la triple interacción los cuales son discutidos.

El contenido de FDA en el grano de sorgo utilizado en este estudio varió entre 1.4 y 3.5 %. Estos resultados fueron más bajos que los reportados por el NRC<sup>56</sup>, en los que se indica un contenido promedio de 6.09 %, con poca variación para grano de sorgo entero, rolado y hojueado al vapor. Por otro lado, Herrera *et al.*<sup>64</sup> en sorgo entero sin ensilar, señalan un contenido de 5.3 % de FDA.

Cuadro 17. Análisis de varianza para los efectos de tamaño de partícula (Tp), humedad (Hum) y tiempo de ensilaje (Te) sobre el contenido de FDA del grano de sorgo

Fuente de variación	G L	C M	F	P
Tp	1	0.0163	80.80	0.0001
Hum	2	0.0039	19.39	0.0001
Te	2	0.0114	56.25	0.0001
Tp x Hum	2	0.0179	88.38	0.0001
Tp x Te	2	0.0314	155.61	0.0001
Hum x Te	4	0.0086	42.48	0.0001
Tp x Hum x Te	4	0.0173	85.40	0.0001
Error	54	0.0002		
Total	71			

Cuadro 18. Contenido de FDA (%) en el grano de sorgo entero y quebrado con diferente humedad (Hum) y tiempo de ensilaje

Tamaño de partícula	Hum (%)	Tiempo de ensilaje					
		0	DE	21	DE	42	DE
Entero	25	2.35 <sup>c</sup>	± 0.08	2.44 <sup>b,c</sup>	± 0.17	1.67 <sup>d,e</sup>	± 0.07
	30	1.44 <sup>e</sup>	± 0.01	1.96 <sup>d</sup>	± 0.02	2.45 <sup>b,c</sup>	± 0.09
	35	2.37 <sup>c</sup>	± 0.23	1.65 <sup>d,e</sup>	± 0.14	2.76 <sup>b</sup>	± 0.18
Quebrado	25	2.47 <sup>b,c</sup>	± 0.06	3.26 <sup>a</sup>	± 0.23	1.79 <sup>d,e</sup>	± 0.16
	30	3.55 <sup>a</sup>	± 0.27	2.78 <sup>b</sup>	± 0.07	1.97 <sup>d</sup>	± 0.10
	35	1.58 <sup>e</sup>	± 0.11	2.77 <sup>b</sup>	± 0.13	1.62 <sup>d,e</sup>	± 0.09

a, b, c, d, e Diferentes literales entre tratamientos indican diferencia significativa, P<0.05  
DE = desviación estándar

La triple interacción indicó que los contenidos de FDA más importantes se encontraron en grano de sorgo quebrado, con 30 % de humedad, sin ensilar (3.55 ± 0.27), y con 25 % de humedad y 21 días de ensilaje (3.26 ± 0.23). Esto posiblemente está indicando más un efecto del método de análisis de laboratorio que un efecto de los tratamientos, ya que cuando se deja incubando la muestra en solución detergente ácida por una noche como fue realizado en este experimento, se pueden degradar algunos componentes de la pared celular de los granos (Van Soest 1991)<sup>63</sup>.

En términos generales, puede decirse que en el grano de sorgo quebrado la concentración de FDN y FDA fue mayor que en el grano entero (5.9 vs. 5.3 % de FDN y 2.4 vs. 2.1 % de FDA respectivamente) y que el ensilaje disminuyó la concentración de FDN (5.4 vs. 6.0 % para grano ensilado y sin ensilar, respectivamente), pero no la de FDA (2.3 % en ambos casos).

Probablemente el quebrado, la reconstitución y posterior acidificación del medio ocurrido durante el ensilaje, produjo separación de las estructuras de la matriz proteínica y algunos carbohidratos solubles se desprendieron de los estructurales, de manera que los ensilados presentaron menor contenido de carbohidratos fibrosos o estructurales que al principio estaban unidos a la pared celular (FDN).

### **Fracciones de la proteína**

El contenido de PC del grano de sorgo utilizado en el presente estudio fue  $8.87 \pm 0.5$  %. Ese porcentaje es menor al consignado en los cuadros de composición de los alimentos del National Research Council (NRC)<sup>56</sup> y al indicado en otros estudios con grano de sorgo reconstituido en los que se señala un contenido de PC de 12.60 %. Hibberd *et al.*<sup>43</sup> en su estudio sobre reconstitución de híbridos de grano de sorgo, obtuvieron 14.1 % de PC para híbrido amarillo, 13.4 % para sorgo café y 10.4 % para sorgo rojo.

El análisis de varianza (Cuadro 19) mostró que el Te, la interacción Tp x Te y la triple interacción fueron significativos ( $P < 0.05$ ). En el Cuadro 20 se presentan los resultados para la triple interacción, la cual será discutida.

Cuadro 19. Análisis de varianza para los efectos de tamaño de partícula (Tp), humedad (Hum) y tiempo de ensilaje (Te) sobre el contenido de PC del grano de sorgo

Fuente de variación	G L	C M	F	P
Tp	1	0.0009	1.55	0.2182
Hum	2	0.0002	0.37	0.6956
Te	2	0.0303	53	0.0001
Tp x Hum	2	0.0002	0.43	0.6508
Tp x Te	2	0.0038	6.67	0.0026
Hum x Te	4	0.0046	8.01	0.0001
Tp x Hum x Te	4	0.0018	3.07	0.0237
Error	54	0.0006		
Total	71			

Cuadro 20. Contenido de PC (%) del grano de sorgo con diferente tamaño de partícula, humedad y tiempo de ensilaje

Tamaño de partícula	Hum (%)	Tiempo de ensilaje (días)					
		0	DE	21	DE	42	DE
Entero	25	8.95 <sup>a</sup>	± 0.07	8.13 <sup>d,e,f</sup>	± 0.10	8.56 <sup>a,b,c,d,e</sup>	± 0.34
	30	8.86 <sup>a,b</sup>	± 0.04	8.04 <sup>e,f</sup>	± 0.14	8.77 <sup>a,b,c</sup>	± 0.24
	35	8.93 <sup>a,b</sup>	± 0.13	7.89 <sup>f</sup>	± 0.17	8.92 <sup>a,b</sup>	± 0.07
Quebrado	25	8.69 <sup>a,b,c,d</sup>	± 0.33	8.81 <sup>a,b,c</sup>	± 0.43	8.31 <sup>b,c,d,e,f</sup>	± 0.49
	30	8.89 <sup>a,b</sup>	± 0.11	8.22 <sup>c,d,e,f</sup>	± 0.11	8.99 <sup>a</sup>	± 0.09
	35	9.01 <sup>a</sup>	± 0.09	8.12 <sup>d,e,f</sup>	± 0.00	8.64 <sup>a,b,c,d,e</sup>	± 0.44

a, b, c, d, e, f Diferentes literales entre tratamientos indican diferencia significativa, P<0.05  
DE = desviación estándar

Como puede observarse, no hubo diferencia estadística en la concentración proteínica del grano de sorgo sin ensilar, independientemente del tamaño de partícula (en promedio, 8.9 %). Como era de esperarse, el valor disminuyó en 21 días de ensilaje (en promedio 8.2 % PC), con una excepción, el tratamiento quebrado con 25 % de humedad, que presentó una concentración de 8.8 %, estadísticamente similar al grano sin ensilar. Un resultado notable fue para los tratamientos a 42 días de ensilaje cuyos resultados fueron estadísticamente

similares a los de 0 días de ensilaje (8.8 % en promedio), excepto para el grano quebrado con 25 % de humedad (8.3 % PC).

Como puede observarse en el Cuadro 20, la reconstitución no tuvo un efecto en la concentración de PC del grano de sorgo, confirmado por la no significancia estadística de este efecto principal (Cuadro 19).

Al respecto Hibberd *et al.*<sup>43</sup> mencionan que el proceso de reconstitución tuvo poco efecto sobre la concentración de la proteína en el grano de sorgo rojo, pero aumentó en la variedad café. Según esos investigadores, el aumento en PC se debió a un incremento en la fracción que contenía kafirinas. Este aumento se asoció con el contenido de taninos, el cual disminuyó con la reconstitución.

En los Cuadros 21 a 25 se presentan los análisis de varianza para las diferentes fracciones de proteína. En todos los casos, la triple interacción resultó significativa. Los resultados se presentan en el Cuadro 26.

Cuadro 21. Análisis de varianza para los efectos de tamaño de partícula (Tp), humedad (Hum) y tiempo de ensilaje (Te) sobre el contenido de la fracción A del grano de sorgo

Fuente de variación	G L	C M	F	P
Tp	1	0.0001	0.27	0.6080
Hum	2	0.0025	6.87	0.0022
Te	2	0.0833	226	0.0001
Tp x Hum	2	0.0021	5.58	0.0063
Tp x Te	2	0.0052	14.1	0.0001
Hum x Te	4	0.0038	10.3	0.0001
Tp x Hum x Te	4	0.0044	11.9	0.0001
Error	54	0.0004		
Total	71			

Cuadro 22. Análisis de varianza para los efectos de tamaño de partícula (Tp), humedad (Hum) y tiempo de ensilaje (Te) sobre el contenido de la fracción B1 del grano de sorgo

Fuente de variación	G L	C M	F	P
Tp	1	0.0003	8280.43	0.0001
Hum	2	0.0001	3573.00	0.0001
Te	2	0.0003	10287.00	0.0001
Tp x Hum	2	0.0002	7025.57	0.0001
Tp x Te	2	0.0003	1041.90	0.0001
Hum x Te	4	0.0001	3087.00	0.0001
Tp x Hum x Te	4	0.0005	15488.10	0.0001
Error	54	0.0000		
Total	71			

Cuadro 23. Análisis de varianza para los efectos de tamaño de partícula (Tp), humedad (Hum) y tiempo de ensilaje (Te) sobre el contenido de la fracción B2 del grano de sorgo

Fuente de variación	G L	C M	F	P
Tp	1	0.0013	4.91	0.0309
Hum	2	0.0033	12.03	0.0001
Te	2	0.1034	378.06	0.0001
Tp x Hum	2	0.0009	3.37	0.0419
Tp x Te	2	0.0014	5.12	0.0092
Hum x Te	4	0.0020	7.18	0.0001
Tp x Hum x Te	4	0.0024	8.81	0.0001
Error	54	0.0003		
Total	71			

Cuadro 24. Análisis de varianza para los efectos de tamaño de partícula (Tp), humedad (Hum) y tiempo de ensilaje (Te) sobre el contenido de la fracción B3 del grano de sorgo

Fuente de variación	G L	C M	F	P
Tp	1	2.1125 <sup>-5</sup>	1521	0.0001
Hum	2	3.7680 <sup>-5</sup>	2713	0.0001
Te	2	1.1514 <sup>-5</sup>	829	0.0001
Tp x Hum	2	5.7792 <sup>-5</sup>	4161	0.0001
Tp x Te	2	7.4625 <sup>-5</sup>	5373	0.0001
Hum x Te	4	5.8680 <sup>-5</sup>	4225	0.0001
Tp x Hum x Te	4	4.0292 <sup>-5</sup>	2901	0.0001
Error	54	1.3888 <sup>-8</sup>		
Total	71			

Cuadro 25. Análisis de varianza para los efectos de tamaño de partícula (Tp), humedad (Hum) y tiempo de ensilaje (Te) sobre el contenido de la fracción C del grano de sorgo

Fuente de variación	G L	C M	F	P
Tp	1	6.7222 <sup>-6</sup>	15.45	0.0002
Hum	2	1.2259 <sup>-4</sup>	281.71	0.0001
Te	2	5.7055 <sup>-6</sup>	131.11	0.0001
Tp x Hum	2	2.5184 <sup>-4</sup>	578.81	0.0001
Tp x Te	2	2.3722 <sup>-5</sup>	54.51	0.0001
Hum x Te	4	2.2305 <sup>-5</sup>	51.26	0.0001
Tp x Hum x Te	4	5.2972 <sup>-5</sup>	121.72	0.0001
Error	54	0.0000		
Total	71			

Cuadro 26. Fracciones de la proteína (N x 6.25) de grano de sorgo entero y quebrado sometido a diferentes tratamientos de reconstitución y ensilaje

<b>Fracción A</b>							
Tamaño de partícula	% HUM	Tiempo de ensilaje (días)					
		0	DE	21	DE	42	DE
Entero	25	0.2900 <sup>b,c</sup>	± 0.07	0.1900 <sup>c</sup>	± 0.02	1.4800 <sup>a</sup>	± 0.23
	30	0.1800 <sup>c</sup>	± 0.02	0.3650 <sup>b,c</sup>	± 0.10	1.4925 <sup>a</sup>	± 0.19
	35	0.2025 <sup>c</sup>	± 0.31	0.2350 <sup>c</sup>	± 0.22	1.5650 <sup>a</sup>	± 0.10
Quebrado	25	0.1800 <sup>c</sup>	± 0.16	0.7625 <sup>b</sup>	± 0.39	0.4650 <sup>b,c</sup>	± 0.41
	30	0.5400 <sup>b,c</sup>	± 0.12	0.2800 <sup>b,c</sup>	± 0.10	1.4675 <sup>a</sup>	± 0.26
	35	0.3775 <sup>b,c</sup>	± 0.07	0.4675 <sup>b,c</sup>	± 0.09	1.6700 <sup>a</sup>	± 0.21
<b>Fracción B1</b>							
Tamaño de partícula	% HUM	Tiempo de ensilaje (días)					
		0	DE	21	DE	42	DE
Entero	25	0.3500 <sup>d</sup>	± 0.00	0.4400 <sup>c</sup>	± 0.00	0.3500 <sup>d</sup>	± 0.00
	30	0.5225 <sup>a,b</sup>	± 0.01	0.4400 <sup>c</sup>	± 0.00	0.4400 <sup>c</sup>	± 0.00
	35	0.4400 <sup>c</sup>	± 0.00	0.4400 <sup>c</sup>	± 0.00	0.5200 <sup>b</sup>	± 0.00
Quebrado	25	0.4400 <sup>c</sup>	± 0.00	0.3500 <sup>d</sup>	± 0.00	0.4400 <sup>c</sup>	± 0.00
	30	0.1700 <sup>e</sup>	± 0.00	0.4400 <sup>c</sup>	± 0.00	0.5250 <sup>a</sup>	± 0.01
	35	0.3500 <sup>d</sup>	± 0.00	0.4400 <sup>c</sup>	± 0.00	0.4400 <sup>c</sup>	± 0.00
<b>Fracción B2</b>							
Tamaño de partícula	% HUM	Tiempo de ensilaje (días)					
		0	DE	21	DE	42	DE
Entero	25	8.0500 <sup>a</sup>	± 0.00	7.2400 <sup>c,d</sup>	± 0.11	6.4725 <sup>g,h</sup>	± 0.12
	30	7.9400 <sup>a</sup>	± 0.04	7.0650 <sup>c,d,e</sup>	± 0.08	6.6275 <sup>f,g,h</sup>	± 0.28
	35	7.9800 <sup>a</sup>	± 0.11	6.8875 <sup>d,e,f,g</sup>	± 0.26	6.5625 <sup>g,h</sup>	± 0.16
Quebrado	25	7.7600 <sup>a,b</sup>	± 0.16	7.4775 <sup>b,c</sup>	± 0.12	7.1750 <sup>c,d</sup>	± 0.05
	30	7.8725 <sup>a,b</sup>	± 0.15	7.2375 <sup>c,d</sup>	± 0.22	6.7400 <sup>e,f,g</sup>	± 0.19
	35	8.0675 <sup>a</sup>	± 0.09	6.9950 <sup>d,e,f</sup>	± 0.09	6.2775 <sup>h</sup>	± 0.33
<b>Fracción B3</b>							
Tamaño de partícula	% HUM	Tiempo de ensilaje (días)					
		0	DE	21	DE	42	DE
Entero	25	0.0900 <sup>c</sup>	± 0.00	0.1700 <sup>a</sup>	± 0.00	0.0875	± 0.01
	30	0.0900 <sup>c</sup>	± 0.00	0.0900 <sup>c</sup>	± 0.00	0.0900 <sup>c</sup>	± 0.00
	35	0.0400 <sup>d</sup>	± 0.00	0.0900 <sup>c</sup>	± 0.00	0.0900 <sup>c</sup>	± 0.00
Quebrado	25	0.1300 <sup>b</sup>	± 0.00	0.0400 <sup>d</sup>	± 0.00	0.0400 <sup>d</sup>	± 0.00
	30	0.1300 <sup>b</sup>	± 0.00	0.0900 <sup>c</sup>	± 0.00	0.0900 <sup>c</sup>	± 0.00
	35	0.0400 <sup>d</sup>	± 0.00	0.0900 <sup>c</sup>	± 0.00	0.0900 <sup>c</sup>	± 0.00
<b>Fracción C</b>							
Tamaño de partícula	% HUM	Tiempo de ensilaje (días)					
		0	DE	21	DE	42	DE
Entero	25	0.1775 <sup>c</sup>	± 0.01	0.0900 <sup>e</sup>	± 0.00	0.1750 <sup>c</sup>	± 0.01
	30	0.1300 <sup>d</sup>	± 0.00	0.0900 <sup>e</sup>	± 0.00	0.1300 <sup>d</sup>	± 0.00
	35	0.2600 <sup>a</sup>	± 0.00	0.2400 <sup>b</sup>	± 0.02	0.1700 <sup>c</sup>	± 0.00
Quebrado	25	0.1750 <sup>c</sup>	± 0.01	0.1750 <sup>c</sup>	± 0.01	0.1750 <sup>c</sup>	± 0.01
	30	0.1725 <sup>c</sup>	± 0.01	0.1750 <sup>c</sup>	± 0.01	0.1750 <sup>c</sup>	± 0.01
	35	0.1700 <sup>c</sup>	± 0.00	0.1300 <sup>d</sup>	± 0.00	0.1700 <sup>c</sup>	± 0.00

a, b, c, d, e, f, g, h Diferentes literales entre tratamientos indican diferencia significativa, P<0.05

DE = desviación estándar

### Fracción A

De forma general se puede decir que la concentración más elevada de la fracción A se encontró a los 42 días de ensilaje (1.48 – 1.67 %), excepto para sorgo quebrado con 25 % de humedad (0.46 %). El valor de 1.67 % registrado en el grano quebrado con 35 % de humedad equivale a 19.3 % de la proteína total. Esa cantidad es mayor a la registrada por Sniffen *et al.*<sup>5</sup> quienes señalan un 12 % de la PC en forma de NNP. Al parecer, en el grano de sorgo ensilado durante 42 días con 25 – 35 % de humedad, aumentó la proporción de PC que se transformó a NNP, probablemente producida por los microorganismos que participan en el proceso de ensilaje.<sup>65</sup>

Las concentraciones más bajas de esta fracción se observaron en los tratamientos sin ensilar y con 30 ó 25 % de humedad (0.18 %), proporción que corresponde a 2 % de la PC. Lo que confirmaría nuestra hipótesis sobre el efecto de los microorganismos en el ensilado.

Cierto aumento en el contenido de NNP al estar presente una cantidad adecuada de energía incrementa la cantidad de nitrógeno microbiano. La reconstitución tiende a aumentar el nitrógeno total que llega al duodeno y la mayor parte del incremento se debe al nitrógeno microbiano.<sup>43</sup>

### Fracción B1

El valor más bajo para la fracción B1 (proteína verdadera soluble de degradación rápida en el rumen) se encontró para grano quebrado con 30 % de humedad sin ensilar (0.17%), correspondiente al 1.91% de la proteína total. Aparentemente, la reconstitución del grano y su posterior ensilaje aumentan la fracción B1 que posiblemente provenga de una parte de la proteína verdadera de la matriz proteínica que recubre los gránulos de almidón. Lo anterior se desprende de la disminución en la cantidad de proteína B2 que presentaron los ensilados, en comparación con el grano reconstituido sin ensilar, como se discutirá más adelante. Sin embargo, los resultados no fueron consistentes debido a que los ensilados de 21 días, independientemente del tamaño de

partícula, presentaron similar ( $P>0.05$ ) contenido de proteína B1 que el sorgo reconstituido sin ensilar.

### Fracción B2

En el caso de la fracción B2 (proteína verdadera soluble de degradación lenta en el rumen), el grano quebrado y sin ensilar presentó la mayor concentración (8.07 – 7.76 %, 7.95 % en promedio; lo que corresponde a 91 – 87 % de la PC). El ensilaje disminuyó significativamente ( $P<0.05$ ) estas concentraciones: a los 21 días el promedio fue de 7.08 % y a los 42 días, 6.54 %, con dos excepciones, grano quebrado con 25 % de humedad, en ambos casos.

Los resultados señalaron claramente que una parte de esta fracción de proteína fue transformada, por los microorganismos del ensilaje hacia la fracción A o la fracción B1 en los ensilados. Viveros *et al.*<sup>40</sup> mencionan que además del efecto causado por los microorganismos en los ensilados sobre las fracciones A y B1, la disminución de la fracción B2 también puede asociarse a un bajo contenido de taninos, y que además, al parecer, le permitiría a esta fracción proteínica permanecer más tiempo en el rumen; la proteína que se degrada lentamente actúa como fuente de nutrientes de sobrepaso proporcionando aminoácidos y péptidos para el crecimiento microbiano.

### Fracción B3

El contenido de fracción B3 (asociada a paredes celulares) osciló entre 0.04 y 0.09 %, excepto en tres tratamientos: sorgo quebrado con 25 o 30 % de humedad, sin ensilar (0.13 %) y sorgo entero con 25 % de humedad y 21 días de ensilaje (0.17 %). La concentración de fracción B3 obtenida en los ensilados de la presente investigación fue menor a la indicada por Sniffen *et al.*<sup>5</sup> en grano de sorgo entero quienes señalan 5.2 % de la PC en grano de sorgo sin ensilar.

### Fracción C

La fracción C (proteína totalmente indigestible) fue similar en los tratamientos sin ensilar y con 42 días de ensilaje, oscilando entre 0.13 y 0.17 % (1.48 y 1.96 % de la PC, respectivamente), excepto para sorgo entero, a 35 % de

humedad que mostró el valor más alto (0.26 %) que corresponde al 2.91 % de la PC. Los tratamientos con 21 días de ensilaje mostraron los valores más fluctuantes, entre 0.09 y 0.24 % (1.11 y 3.04 % de la PC, respectivamente). Estas concentraciones extremas corresponden al sorgo entero. El sorgo quebrado tuvo concentraciones de la fracción C similares a los tratamientos con 0 y 42 días de ensilaje. La concentración de fracción C obtenida en la presente investigación fue menor a la que señala la composición de los alimentos para bovinos productores de carne, NRC<sup>56</sup> donde se señala 5 % de la PC como fracción C en grano de sorgo entero y rolado. Los valores registrados en la presente investigación también son menores a los consignados por Sniffen *et al.*<sup>5</sup> quienes indicaron 4.8 % de PC como fracción C en sorgo entero.

El hecho de encontrar baja cantidad de fracción C en los ensilados de sorgo de la presente investigación es favorable, ya que se debe tener presente que esta proteína no está disponible para los animales.<sup>38</sup> Así se puede considerar que el ensilaje del grano mejora la disponibilidad de la proteína al disminuir esta fracción.

En la presente investigación, el contenido de humedad y el tamaño de partícula del grano de sorgo permiten observar modificaciones en las concentraciones de carbohidratos estructurales y fracciones de la proteína.

## **Experimento 5**

### **Carbohidratos estructurales**

El Cuadro 27 muestra los resultados del análisis de varianza para FDN. El tiempo de ensilaje resultó significativo ( $P = 0.004$ ) (Cuadro 28). Algo similar sucedió en el experimento 4 donde la concentración de FDN fue menor en el grano entero ensilado durante 42 días. Es probable que la acción bacteriana durante el ensilaje solubilice en cierta medida a los carbohidratos estructurales.<sup>12, 66</sup>

Cuadro 27. Análisis de varianza para el efecto de tiempo de germinación y ensilaje en el contenido de FDN del grano de sorgo

Fuente de variación	G L	C M	F	P
Días de germinado	3	0.0038	2.44	0.0799
Días de ensilaje	2	0.0099	6.44	0.0041
DG x DE	6	0.0029	1.87	0.1129
Error	36	0.0016		
Total	47			

Cuadro 28. Contenido de FDN (%) en el grano de sorgo con diferente tiempo de germinación y ensilaje

Germinado (días)	Ensilaje (días)					
	21	DE	42	DE	63	DE
0	5.33 <sup>a,b</sup>	± 0.32	5.50 <sup>a,b</sup>	± 0.35	4.64 <sup>b</sup>	± 0.22
2	5.32 <sup>a,b</sup>	± 0.51	5.55 <sup>a,b</sup>	± 0.43	5.13 <sup>a,b</sup>	± 0.11
4	5.77 <sup>a</sup>	± 0.40	5.80 <sup>a</sup>	± 0.51	5.18 <sup>a,b</sup>	± 0.33
6	5.80 <sup>a</sup>	± 0.45	5.16 <sup>a,b</sup>	± 0.50	5.43 <sup>a,b</sup>	± 0.39

<sup>a, b</sup> Diferentes literales entre tratamientos indican diferencia significativa, P<0.05  
DE = desviación estándar

Elmaki *et al.*<sup>67</sup> atribuyen los cambios en el contenido de fibra al hecho de que parte de los carbohidratos estructurales de la semilla pueden ser solubilizados enzimáticamente durante la germinación.

El análisis de varianza para FDA (Cuadro 29) mostró un efecto significativo (P<0.0001) de la interacción días de germinado x días de ensilaje. El Cuadro 30 presenta los resultados de esa interacción, los cuales se grafican en la Figura 9.

Cuadro 29. Análisis de varianza para el efecto de tiempo de germinación y ensilaje en el contenido de FDA del grano de sorgo

Fuente de variación	G L	C M	F	P
Dias de germinado	3	0.0218	81.8	0.0001
Dias de ensilaje	2	0.0037	13.8	0.0001
DG x DE	6	0.0219	82.1	0.0001
Error	36	0.0003		
Total	47			

Cuadro 30. Contenido de FDA (%) en el grano de sorgo con diferente tiempo de germinación y ensilaje

Germinado (días)	Ensilaje (días)					
	21	DE	42	DE	63	DE
0	1.66 <sup>e</sup>	± 0.12	2.45 <sup>b,c</sup>	± 0.10	1.39 <sup>e</sup>	± 0.12
2	1.78 <sup>d,e</sup>	± 0.16	2.62 <sup>b</sup>	± 0.26	3.32 <sup>a</sup>	± 0.22
4	2.18 <sup>c,d</sup>	± 0.17	2.45 <sup>b,c</sup>	± 0.18	3.35 <sup>a</sup>	± 0.13
6	3.54 <sup>a</sup>	± 0.22	2.52 <sup>b,c</sup>	± 0.09	2.26 <sup>b,c</sup>	± 0.03

a, b, c, d, e Diferentes literales entre tratamientos indican diferencia significativa, P<0.05  
DE = desviación estándar

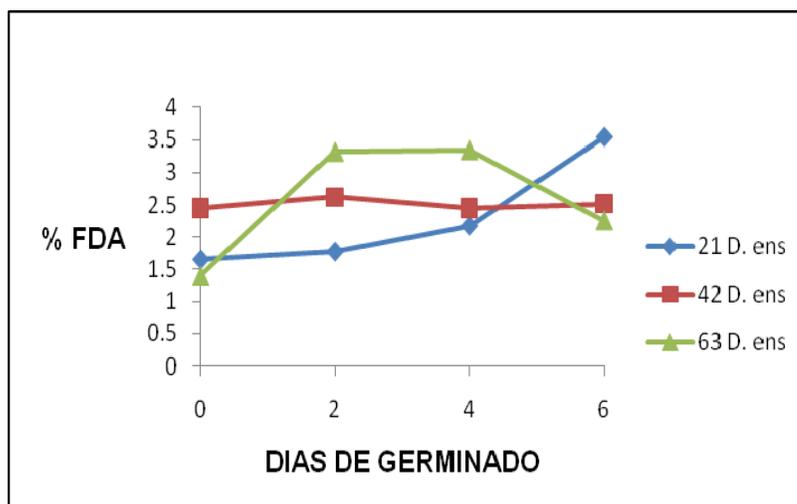


Figura 9. Contenido de FDA (%) con diferentes tiempos de ensilaje y de germinación del grano de sorgo

Con 42 días de ensilaje la concentración de FDA fue mayor en el grano sin germinar, que en 21 o 63 días. Sin embargo, esta concentración no se vió

afectada por los días de germinación. En el grano ensilado durante 21 días, la concentración de FDA se fue incrementando en función de los días de germinación. A los 63 días de ensilaje, la concentración de FDA no fue diferente ( $P < 0.05$ ) entre 2 y 4 días de germinación y después disminuyó. Es posible que el ensilaje y la germinación produzcan la solubilización de al menos cierta cantidad de carbohidratos estructurales, correspondientes principalmente a la FDN, al reducirse los carbohidratos solubles por los microorganismos se incrementa la porporción de fibra particularmente el contenido de FDA.<sup>68</sup> Esta solubilización, aunada a la utilización de los carbohidratos solubles, pueden hacer que proporcionalmente haya aumentado la concentración de FDA en un principio, pero a medida que se incrementó el tiempo de ensilaje, quizá los microorganismos tuvieron mayor tiempo para hacer uso de los carbohidratos estructurales y por eso la concentración de FDA disminuyó.<sup>12, 66</sup>

Los resultados de FDA en este experimento fueron menores a los consignados por el NRC<sup>56</sup> (6.09 %) y a los obtenidos por Sniffen *et al.*<sup>5</sup> quienes señalaron 5.0 % en grano de sorgo entero. Al respecto, Herrera *et al.*<sup>64</sup> en un estudio que incluyó 5 cereales, obtuvieron 5.3 % de FDA en grano de sorgo entero. Sin embargo, aquellos investigadores no utilizaron reconstitución o germinado del grano y ensilaje.

### **Fraciones de proteína**

El contenido de PC obtenido en el grano de sorgo sin procesar (9.93 %) fue ligeramente mayor al del sorgo utilizado en el experimento 4 (8.87 %). Ambos valores fueron menores a la concentración consignada en el NRC<sup>56</sup> para grano entero, ya que en los cuadros de composición de alimentos se indica 12.4 % de PC en grano seco y 12.60 % de PC en grano rolado. Sin embargo, la concentración registrada en los ensilados de la presente investigación fue similar a la obtenida por diversos investigadores en grano de sorgo producido en diversas regiones de México para alimentar rumiantes, aves y cerdos.<sup>19, 58</sup>

Los análisis de varianza para la concentración de PC, y para las diferentes fracciones (Cuadros 31 al 36) indicaron que el efecto de la interacción días de germinación x días de ensilaje fue significativo ( $P < 0.003$ ).

Cuadro 31. Análisis de varianza para el efecto de tiempo de germinación y ensilaje en el contenido de PC del grano de sorgo

Fuente de variación	G L	C M	F	P
Dias de germinado	3	0.0038	11.9	0.0001
Dias de ensilaje	2	0.0099	31.5	0.0001
DG x DE	6	0.0013	4.2	0.0027
Error	36	0.0003		
Total	47			

Cuadro 32. Análisis de varianza para el efecto de tiempo de germinación y ensilaje en el contenido de la fracción A del grano de sorgo

Fuente de variación	G L	C M	F	P
Dias de germinado	3	0.0671	112.0	0.0001
Dias de ensilaje	2	0.0086	14.4	0.0001
DG x DE	6	0.0111	18.6	0.0001
Error	36	0.0006		
Total	47			

Cuadro 33. Análisis de varianza para el efecto de tiempo de germinación y ensilaje en el contenido de la fracción B1 del grano de sorgo

Fuente de variación	G L	C M	F	P
Dias de germinado	3	0.00009	67.1	0.0001
Dias de ensilaje	2	0.00146	1043.0	0.0001
DG x DE	6	0.00038	275.0	0.0001
Error	36	0.00000		
Total	47			

Cuadro 34. Análisis de varianza para el efecto de tiempo de germinación y ensilaje en el contenido de la fracción B2 del grano de sorgo

Fuente de variación	G L	C M	F	P
Días de germinado	3	0.0585	130.0	0.0001
Días de ensilaje	2	0.0081	18.0	0.0001
DG x DE	6	0.0070	15.8	0.0001
Error	36	0.0004		
Total	47			

Cuadro 35. Análisis de varianza para el efecto de tiempo de germinación y ensilaje en el contenido de la fracción B3 del grano de sorgo

Fuente de variación	G L	C M	F	P
Días de germinado	3	0.0004	377.96	0.0001
Días de ensilaje	2	0.0002	233.90	0.0001
DG x DE	6	0.0003	343.18	0.0001
Error	36	0.0000		
Total	47			

Cuadro 36. Análisis de varianza para el efecto de tiempo de germinación y ensilaje en el contenido de la fracción C del grano de sorgo

Fuente de variación	G L	C M	F	P
Días de germinado	3	3.7694 <sup>-5</sup>	84.81	0.0001
Días de ensilaje	2	2.5439 <sup>-4</sup>	572.39	0.0001
DG x DE	6	4.8009 <sup>-5</sup>	108.02	0.0001
Error	36	4.4444 <sup>-7</sup>		
Total	47			

El Cuadro 37 y la Figura 10 muestran los resultados para PC. Aunque hubo fluctuaciones en la concentración de PC en los tratamientos, finalmente no hubo diferencias significativas entre días de ensilaje con 2, 4 o 6 días de germinación. La diferencia principal se observó en la menor concentración de PC en el grano sin germinar y ensilado por 21 días. En los tratamientos de 42 y

63 días de ensilaje, no hubo diferencia en la concentración de PC entre días de germinación. En el caso del tratamiento con 21 días de ensilaje, hubo un claro incremento ( $P < 0.05$ ) de la PC entre el grano sin germinar y el día 2 de germinación.

Cuadro 37. Contenido de PC (%) en el grano de sorgo con diferente tiempo de germinación y de ensilaje

Germinado (días)	Ensilaje (días)					
	21	DE	42	DE	63	DE
0	<b>9.93<sup>d</sup></b>	$\pm 0.47$	10.77 <sup>a,b,c</sup>	$\pm 0.06$	10.67 <sup>a,b,c</sup>	$\pm 0.12$
2	10.48 <sup>b,c</sup>	$\pm 0.07$	10.92 <sup>a,b</sup>	$\pm 0.18$	10.66 <sup>a,b,c</sup>	$\pm 0.22$
4	10.55 <sup>b,c</sup>	$\pm 0.04$	10.84 <sup>a,b,c</sup>	$\pm 0.08$	10.96 <sup>a,b</sup>	$\pm 0.13$
6	10.73 <sup>a,b,c</sup>	$\pm 0.14$	11.09 <sup>a</sup>	$\pm 0.18$	10.76 <sup>a,b,c</sup>	$\pm 0.03$

a, b, c, d Diferentes literales entre tratamientos indican diferencia significativa,  $P < 0.05$   
DE = desviación estándar

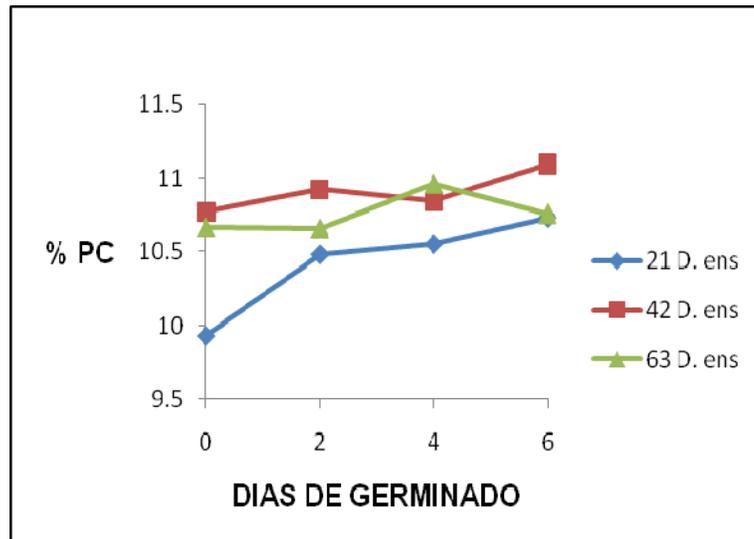


Figura 10. Contenido de PC (%) con diferente tiempo de germinación y ensilaje del grano de sorgo

Durante la germinación hubo un incremento significativo en la concentración de PC en comparación con el día 0 de germinación y 21 de ensilaje, estos resultados son similares a los que indicó Salazar<sup>69</sup> en grano de cebada y de trigo. Sin embargo, en esos granos el aumento se observó a partir del día 10,

en los germinados que no habían sido inoculados con bacterias fijadoras. Ese investigador concluyó que las semillas contienen endobacterias fijadoras de nitrógeno que producen cambios específicos en los diferentes elementos nutritivos. Probablemente las semillas de sorgo utilizadas presentaban bacterias fijadoras de N, que produjeron aumento de la PC, desafortunadamente en la presente investigación no se incluyó su caracterización o cuantificación. Respecto al ensilaje del día 21, hubo un efecto lineal ( $P < 0.01$ ) de incremento en el contenido de PC al aumentar los días de germinado, dicho aumento en PC corresponde a la probable actividad de endobacterias fijadoras de N. La actividad de esas bacterias, tiene correspondencia con los cambios en las fracciones de proteína, principalmente el aumento en la fracción A (NNP, integrado por nitrógeno amoniacal y N  $\alpha$ -amino libre) en el ensilado (Figura 11, Cuadro 32) ya que desde que comienza la primer fase del ensilaje, se presenta una proteólisis y por lo tanto incremento en esta fracción. Ese aumento de NNP tuvo una correlación negativa ( $P < 0.05$ , Cuadro 38) con la fracción B2 y C. La proporción de nitrógeno potencialmente degradable se reduce, en tanto que el nitrógeno no degradable, que se encuentra ligado a las paredes celulares, permanece casi sin cambios.<sup>12</sup>

Cuadro 38. Análisis de correlación para las fracciones de proteína con diferente tiempo de germinación y ensilaje en el grano de sorgo

		Fracción de la proteína				
		A	B1	B2	B3	C
Fracción de la proteína	B1	-0.1882				
	Valor de P	0.2003				
	B2	<b>-0.9579</b>	0.0884			
	Valor de P	<b>0.0000</b>	0.5503			
	B3	-0.0254	<b>0.5856</b>	-0.1311		
	Valor de P	0.8641	<b>0.0000</b>	0.3745		
	C	<b>-0.4156</b>	0.2645	<b>0.4133</b>	0.1153	
	Valor de P	<b>0.0033</b>	0.0692	<b>0.0035</b>	0.4351	
	PC	0.2415	<b>0.3062</b>	-0.0965	0.1874	0.2211
	Valor de P	0.0982	<b>0.0343</b>	0.5143	0.2022	0.1310

De acuerdo con Ciornea *et al.*<sup>68</sup> en la dinámica de la concentración de proteínas solubles en el sorgo germinado, se puede presentar variación en los valores observados de un día para otro. Por lo tanto, la concentración proteínica puede aumentar en los primeros cuatro días de germinación y decrecer repentinamente después del quinto día, para volver a aumentar hasta las cantidades elevadas señaladas en distintas referencias del grano germinado.<sup>68,69</sup> Lo anterior podría ser indicativo de la posible aceleración de la biosíntesis ocurrida durante la germinación, a partir de la cual todas las enzimas necesarias para los procesos metabólicos desarrollados dentro de la célula vegetal se incrementan, para asegurar el crecimiento del embrión y el desarrollo de la plántula.

El Cuadro 39 muestra los resultados para las fracciones de proteína. Como puede observarse en la Figura 11, la fracción A (o NNP) no mostró variaciones durante 21 días de ensilaje, independientemente del tiempo de germinación. Pero al aumentar los días de ensilaje a 42 o 63 días y los días de germinación, el NNP fue aumentando también.

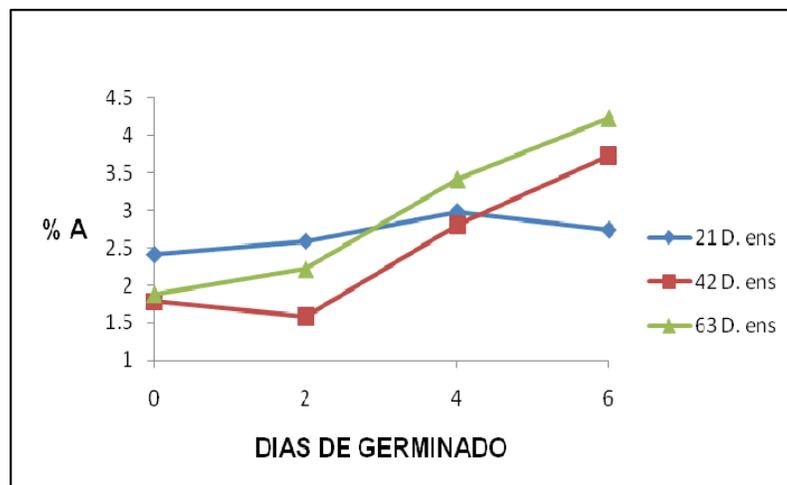


Figura 11. Contenido de la fracción A (%) en el grano de sorgo por efecto del tiempo de germinación y ensilaje

Cuadro 39. Fracciones de la proteína (N x 6.25) en grano de sorgo sometido a diferentes tratamientos de germinación y de ensilaje

<b>Fracción A</b>						
Germinado (días)	Ensilaje (días)					
	21	DE	42	DE	63	DE
0	2.41 <sup>d,e,f</sup>	± 0.10	1.78 <sup>gh</sup>	± 0.04	1.88 <sup>f,g,h</sup>	± 0.23
2	2.59 <sup>d,e</sup>	± 0.14	1.58 <sup>h</sup>	± 0.22	2.22 <sup>e,f,g</sup>	± 0.25
4	2.98 <sup>c,d</sup>	± 0.36	2.81 <sup>d,e</sup>	± 0.36	3.42 <sup>b,c</sup>	± 0.15
6	2.74 <sup>d,e</sup>	± 0.16	3.73 <sup>a,b</sup>	± 0.31	4.24 <sup>a</sup>	± 0.34
<b>Fracción B1</b>						
Germinado (días)	Ensilaje (días)					
	21	DE	42	DE	63	DE
0	0.35 <sup>b</sup>	± 0.00	0.35 <sup>b</sup>	± 0.04	0.35 <sup>b</sup>	± 0.00
2	0.35 <sup>b</sup>	± 0.00	0.50 <sup>a</sup>	± 0.22	0.26 <sup>c</sup>	± 0.00
4	0.35 <sup>b</sup>	± 0.00	0.52 <sup>a</sup>	± 0.36	0.35 <sup>b</sup>	± 0.00
6	0.52 <sup>a</sup>	± 0.01	0.52 <sup>a</sup>	± 0.31	0.17 <sup>d</sup>	± 0.01
<b>Fracción B2</b>						
Germinado (días)	Ensilaje (días)					
	21	DE	42	DE	63	DE
0	7.28 <sup>b</sup>	± 0.05	8.11 <sup>a</sup>	± 0.08	8.09 <sup>a</sup>	± 0.21
2	7.21 <sup>b</sup>	± 0.13	8.37 <sup>a</sup>	± 0.09	7.89 <sup>a</sup>	± 0.15
4	6.91 <sup>b,c</sup>	± 0.38	7.02 <sup>b</sup>	± 0.30	6.84 <sup>b,c</sup>	± 0.14
6	6.79 <sup>b,c</sup>	± 0.24	6.45 <sup>c,d</sup>	± 0.19	6.00 <sup>d</sup>	± 0.29
<b>Fracción B3</b>						
Germinado (días)	Ensilaje (días)					
	21	DE	42	DE	63	DE
0	0.17 <sup>c</sup>	± 0.01	0.22 <sup>b</sup>	± 0.00	0.17 <sup>c</sup>	± 0.01
2	0.16 <sup>c</sup>	± 0.02	0.23 <sup>b</sup>	± 0.02	0.13 <sup>d</sup>	± 0.00
4	0.13 <sup>d</sup>	± 0.00	0.22 <sup>b</sup>	± 0.00	0.17 <sup>c</sup>	± 0.01
6	0.49 <sup>a</sup>	± 0.02	0.22 <sup>b</sup>	± 0.00	0.18 <sup>c</sup>	± 0.01
<b>Fracción C</b>						
Germinado (días)	Ensilaje (días)					
	21	DE	42	DE	63	DE
0	0.17 <sup>d</sup>	± 0.00	0.31 <sup>a</sup>	± 0.00	0.17 <sup>d</sup>	± 0.01
2	0.17 <sup>d</sup>	± 0.00	0.23 <sup>c</sup>	± 0.02	0.18 <sup>d</sup>	± 0.00
4	0.18 <sup>d</sup>	± 0.01	0.26 <sup>b</sup>	± 0.00	0.18 <sup>d</sup>	± 0.01
6	0.18 <sup>d</sup>	± 0.00	0.17 <sup>d</sup>	± 0.00	0.17 <sup>d</sup>	± 0.01

a, b, c, d, e, f, g, h Diferentes literales entre tratamientos indican diferencia significativa, P<0.05  
DE = desviación estándar

La mayor concentración de fracción A (4.23 %) para 63 días de ensilaje y 6 de germinación correspondió a 39.3 % de la proteína total, valor mayor a lo observado por los ensilados del experimento 4 y ligeramente mayor al señalado por Sniffen *et al.*<sup>5</sup> quienes en grano de sorgo molido observaron 30 % de la proteína total como NNP. En los cuadros de composición de los alimentos del

NRC <sup>56</sup> se indica que en el grano de sorgo entero, rolado y hojueleado; la fracción A corresponde a 33 % de la proteína total. Probablemente el aumento de esta fracción en los ensilados de la presente investigación, se puede atribuir a la actividad de las endobacterias que hidrolizan una parte de la proteína del grano durante la germinación, a partir de la fracción B2 y C principalmente, para satisfacer sus necesidades entre tanto que incrementan su número o capacidad de fijación de nitrógeno, lo que de acuerdo con Salazar<sup>69</sup> ocurre a partir del quinto día de germinación.

Los resultados de la fracción B1 fueron más variables (Figura 12). Los valores más importantes se encontraron en los ensilados de 42 días y el menor en el ensilado de 63 días con 6 días de germinación, oscilando entre 4.8 y 1.6% de la proteína total. Los valores de fracción B1 del presente experimento fueron similares a los obtenidos en el experimento 4.

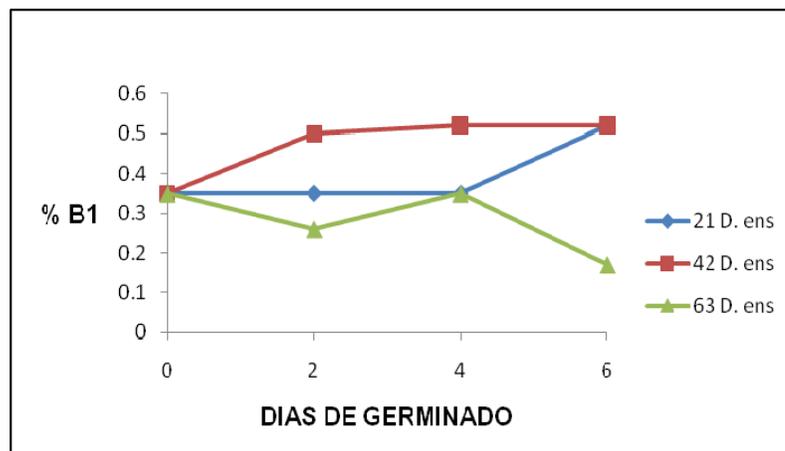


Figura 12. Contenido de la fracción B1 (%) en el grano de sorgo por efecto del tiempo de germinación y ensilaje

Al parecer la germinación también aumenta el contenido de proteína soluble rápidamente degradable en rumen (fracción B1) presente en el ensilado, debido a que probablemente la biosíntesis enzimática promueve la remoción de parte de la proteína verdadera de la matriz proteínica que recubre los gránulos de almidón, quedando ésta como proteína más disponible, que, al metabolizarse, contribuye además al incremento de la fracción A. Lo anterior, se confirma por la disminución en la cantidad de proteína B2 que presentan los

ensilados con grano germinado durante 6 días, en comparación al sorgo sin germinar o con 2 días de germinado.

Los resultados de la fracción B2 fueron más evidentes (Figura 13). Esta fracción no se vió afectada por la germinación en los ensilados de 21 días, pero fue más alta en los ensilados de 42 y 63 días con 0 ó 2 días de germinación, para ir disminuyendo a los 4 y 6 días de germinación. La concentración de fracción B2 osciló entre el 76.6 % y el 55.7 % de la proteína total.

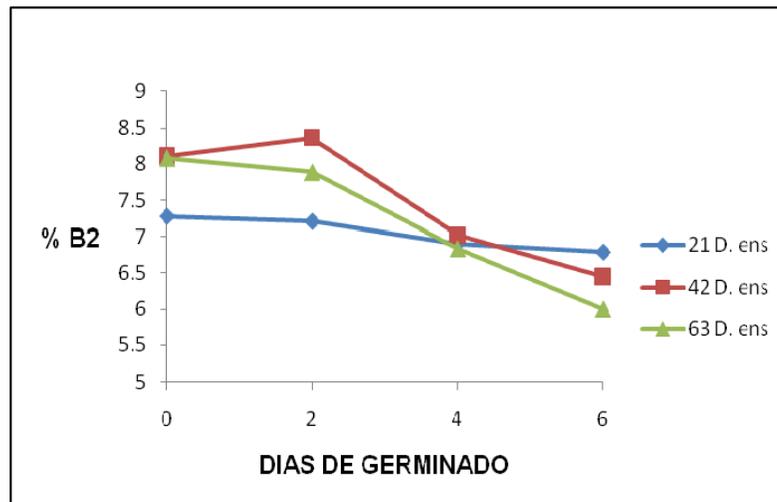


Figura 13. Contenido de la fracción B2 (%) en el grano de sorgo por efecto del tiempo de germinación y ensilaje

La disminución en fracción B2 (para 42 y 63 días de ensilaje) conforme aumentó el tiempo de germinación y ensilaje probablemente se debió a que esa fracción integra en mayor medida la matriz proteínica que rodea a los gránulos de almidón. Esta se solubiliza al someter el grano al proceso de reconstitución o germinación antes del ensilaje, aumentando la cantidad de almidón soluble y su disponibilidad.<sup>42</sup>

La fracción B3 corresponde a la proteína ligada a la FDN que no siguió el patrón de hidrólisis señalado para las anteriores fracciones de la proteína. Su cantidad fue mayor ( $P < 0.05$ ) en los ensilados de 42 días y permaneció sin cambios durante los días de germinación (Figura 14). Algo similar sucedió en los ensilados de 63 días (excepto a los 2 días de germinación). Sin embargo, también tuvo una correlación negativa (aunque no significativa,  $P > 0.05$ ) con la

fracción A, por lo que el aumento de los días de ensilado para los tratamientos de 42 y 63 días representó una concentración ligeramente disminuida de esta fracción similar en los distintos días de germinación. Sin embargo, en el ensilado de 21 y 6 días de germinación, debido al menor tiempo de hidrólisis la cantidad de esta fracción, aumentó ( $P < 0.05$ , Figura 14).

Estas concentraciones fueron menores a las obtenidas por Sniffen *et al.*<sup>5</sup> quienes señalan 5.2 % de fracción B3 como proporción de la proteína total (contra 0.13 y 4.6 % en este estudio), y menores a las que muestran los cuadros de composición de alimentos del NRC<sup>56</sup>, en los que se indica 5 % de fracción B3 como proporción de la PC en grano entero de sorgo. Sin embargo, las cantidades obtenidas en el presente estudio fueron mayores a las registradas en el experimento 4.

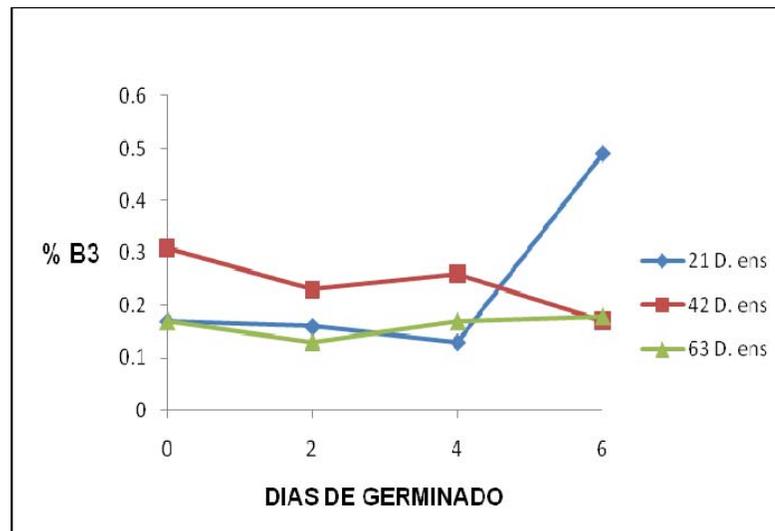


Figura 14. Contenido de la fracción B3 (%) en el grano de sorgo por efecto del tiempo de germinación y ensilaje

La fracción C (Figura 15) no presentó cambios por efecto de los días de germinación en los ensilados de 21 o 63 días, cuya concentración fue similar. La mayor concentración de fracción C se observó en los ensilados de 42 días, la cual fue cambiando con los días de germinación hasta llegar a un valor similar al de los otros dos ensilados con 6 días de germinación. La fracción C osciló entre el 2.9 y 1.6 % de la proteína total. Los resultados del presente experimento fueron similares a los del experimento 4.

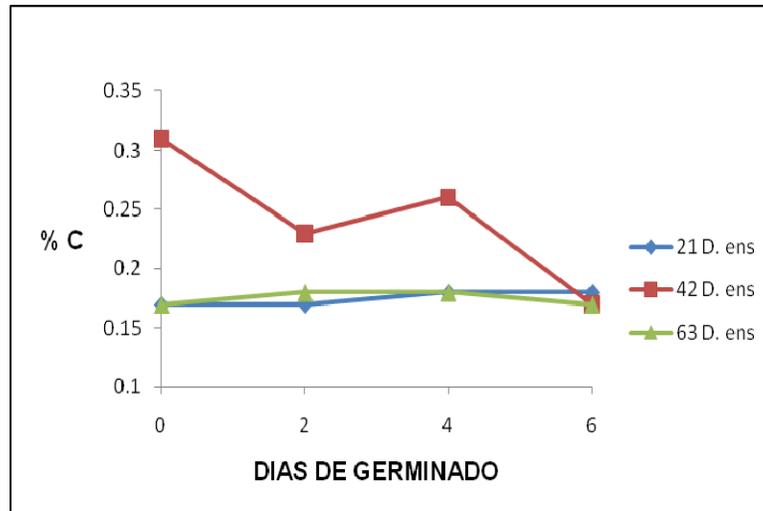


Figura 15. Contenido de la fracción C (%) en el grano de sorgo por efecto del tiempo de germinación y ensilaje

En general, la cantidad de fracción C fue inferior a la indicada por Sniffen *et al.*<sup>5</sup> y el NRC<sup>56</sup>, donde se señalan concentraciones de alrededor del 5 % de la PC. Como se señaló en el experimento 4, resulta beneficioso para la utilización de la proteína de sorgo en el animal, que ni la germinación ni el tiempo de ensilaje hayan aumentado el contenido de fracción C (proteína ligada a la FDA) que es completamente indigestible. Se ha comprobado que la digestibilidad está inversamente relacionada con esta fracción proteínica estrechamente ligada a la fibra insoluble.<sup>12</sup>

La variabilidad de los resultados en este experimento puede asociarse al proceso de germinación, ya que, aunque se haya proporcionado las mismas condiciones a todos los tratamientos, el proceso de germinación pudo presentarse de manera distinta en cada charola utilizada, además, la velocidad de absorción de agua puede ser diferente entre algunos granos, por consiguiente, se puede hacer más lenta la solubilidad de proteínas y/o carbohidratos y esto afectar los resultados obtenidos. Aunado a esto, algunas bacterias como las ácido – lácticas pueden entrar en latencia en respuesta a las condiciones medio ambientales que se presenten durante el proceso de ensilaje.<sup>66</sup>

La germinación seguida del ensilaje modificó la disponibilidad de FDN y de las fracciones A y B3, la cuales alteraron la disponibilidad de las fracciones B1 y

B2. La fracción C no varió (excepto a 42 días de ensilaje), sin embargo, su concentración fue menor a la reportada por la literatura.

#### 4. CONCLUSIONES

- 1) En el proceso de reconstitución del grano de sorgo hubo efecto de la temperatura del agua cuando se utilizó a 70 °C de forma constante; en esas condiciones el uso de surfactante no afectó el contenido de humedad, el cual fue mayor al 28 %. Aun cuando se utilizaron diferentes dosis. Por otra parte, ese contenido de humedad fue similar al obtenido con el aumento del tiempo de hidratación (6h) a temperatura ambiente, independientemente de la adición de un agente surfactante.
- 2) En el experimento 4, donde se evaluó los efectos de tamaño de partícula, contenido de humedad y tiempo de ensilaje sobre el contenido de carbohidratos estructurales y de proteína y sus fracciones, se concluye que el sorgo reconstituido sin ensilar, el ensilado de sorgo quebrado con 25 – 30 % de humedad, presentaron mayor contenido de fracciones de carbohidratos estructurales (FDN, FDA). En los microsilos con grano quebrado y 30 de humedad, el ensilaje a 42 días, aumentó el contenido de fracciones de proteína: A y B1. En cambio, los microsilos sin ensilar con 35 % humedad registraron mayor contenido de fracción B2. Por otra parte, la fracción B3 fue menor en grano entero con 25 y 30 % humedad a 21 días de ensilaje. La fracción C fue menor a la del grano sin procesar en los microsilos con grano entero y 35 % Hum, grano quebrado y 25 % Hum a 21 y 42 días de ensilaje.
- 3) Los resultados obtenidos en el quinto ensayo permiten afirmar que el incremento en el tiempo de germinación (6 días) y de ensilaje (21 días), aumentó la concentración de fracciones de carbohidratos estructurales (FDN, FDA). La fracción A de la proteína fue mayor a 6 días de germinado y 63 días de ensilaje; el contenido de la fracción B3 fue mayor a 6 días de germinación y 21 días de ensilaje; el ensilaje con 42 días, disminuyó el contenido de las fracciones de proteína B1 y B2 comparados con el experimento 4. La fracción de proteína B1 fue menor con 4 días de germinación y la fracción B2 fue menor con 2 días de germinación. La fracción C fue similar a la registrada en el grano

reconstituido y ensilado, en ambos experimentos, los valores fueron menores a los del grano entero, lo que es favorable por tratarse de proteína no aprovechable.

## 5. LITERATURA CITADA

1. Cauich CI, Dorantes AJA. Situación y perspectivas del sorgo en el contexto del TLCAN. Universidad Autónoma Chapingo, 2004.
2. Guada JA. Efectos del procesado sobre la degradabilidad ruminal de proteína y almidón. IX Curso de especialización FEDNA. Barcelona (España), 1993.
3. Belton PS, Delgadillo I, Halford NG, Shewry PR. Kafirin structure and functionality. J Cereal Sci 2006; 44 (3): 272 – 286.
4. Hulse JH, Laing EM, Pearson OE. Sorghum and the millets: their composition and nutritive value. Great Britain: Academic press, 1980.
5. Sniffen CJ, O'connor JD, Van Soest PJ, Fox DG, Rusell JB. A net carbohydrate and protein system for evaluating cattle diets: II carbohydrate and protein system availability. J Anim Sci 1992; 70: 3562 – 3577.
6. Garcidueñas RM. Fisiología vegetal aplicada. 4ª ed. México: Interamericana Mc Graw – Hill, 1993.
7. Department of Agriculture [database on the internet]. United States of America [cited March 2009]. Available from: <http://www.fas.usda.gov>
8. Servicio de información agroalimentaria y pesquera – SAGARPA [base de datos de internet]. México [citado en Marzo, 2009]. Disponible en: <http://www.siap.sagarpa.gob.mx>.
9. Bennett FW, Tucker BB, Madner BA. Modern grain sorghum production. Iowa State University press / Ames. USA, 1990.
10. Albiñana IL. El sorgo: cultivo y aprovechamiento. México: AEDOS, 1984.
11. Tisch D A, Thomson D. Animal Feeds, feeding and nutrition and ration evaluation. USA: Delmar Learning, 2006.
12. Mc Donald P, Edwards RA, Greenhalgh CA, Morgan CA. Nutrición animal. 6ª ed. Zaragoza (España): Acribia, 2006.
13. Arteaga J, Ortiz de Bertorelli L. Evaluación nutricional de la proteína del grano de sorgo (*Sorghum bicolor* (L.) Moench). Rev Fac Agron 1987; 15:213 - 24.

14. Montiel MD, Elizalde JC. Factores que afectan la utilización ruminal del grano de sorgo en vacunos. Rev Arg Prod Anim 2004; 24 (1-2): 1 – 20.
15. Cohen RS, Tanksley D. Energy and Protein digestibility of sorghum grains with different endosperm textures and starch types by growing swine. J Anim Sci 1973; 37:931 – 935.
16. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación [Página de internet]. México [citado en septiembre 2008]. Disponible en: <http://www.fao.org>
17. Buffo RA. Relationships among grain sorghum quality factors. Cereal Chem 1998; 75:100 – 104.
18. Fundación Española para el Desarrollo de la Nutrición Animal [base de datos de internet]. España [citado en diciembre, 2009]. Disponible en: <http://www.etsia.upm.es/fedna/tablas.htm>
19. Hernández GEV. Efecto del nivel de humedad, tamaño de partícula y tiempo de almacenaje sobre la digestión *in vitro* del almidón y características de fermentación de sorgo grano (*Sorghum bicolor* L. Moench) reconstituido y ensilado. (tesis de licenciatura). México: Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, UNAM, 2007.
20. Lupien JR. El sorgo y el mijo en la alimentación humana. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación [Página de internet]. Roma (Italia) [citado en septiembre 2008]. Disponible en: [http://www.fastonline.org/CD3WD\\_40/INPHO/VLIBRARY/T0818E/ES/T0818S00.HTM#CONTENTS](http://www.fastonline.org/CD3WD_40/INPHO/VLIBRARY/T0818E/ES/T0818S00.HTM#CONTENTS)
21. Chandrashekar A, Kirleis AW. Influence of protein on starch gelatinization in sorghum. Cereal Chem 1988; 65 (6): 457 – 462.
22. Rooney LW, Pflugfelder RL. Factors affecting starch digestibility with special emphasis on sorghum and corn. J Anim Sci 1986; 63: 1607 – 1623.
23. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación [Página de internet]. México [citado en diciembre 2009]. Disponible en: <http://www.fao.org/inpho/content/compend/text/ch07.htm>

24. Mendoza MGD, Velasco RR. Alimentación de ganado bovino con dietas altas en granos. México: Universidad Autónoma Metropolitana unidad Xochimilco, 1993.
25. Jobling S. Improving starch for food and industrial applications. *Current Opinion in Plant Biology* 2004; 7: 210 – 218.
26. Hamaker RB, Bugusu AB. Overview: sorghum proteins and food quality. [Página de internet]. Department of food science. Purdue University. United States of America, [citado en abril, 2008]. Disponible en: <http://www.afripro.org.uk/papers/Paper08Hamaker.pdf>
27. Díaz ZJC, Hicks GJJ. Bioquímica. México: Interamericana Mc Graw – Hill, 1995.
28. Shewry PR, Haldford NG. The prolamin storage proteins of sorghum and millets. [página de internet] Long Ashton Research Station. United Kingdom [citado en julio, 2008]. Disponible en: <http://www.afripro.org.uk/papers/Paper03Shewry.pdf>
29. Wong JH, Tsang L, Cai N, Singh J, Pedersen JF, Vensel WH *et al.* Features of grain endosperm. *J Cereal Sci* 2009; 49: 73 – 82.
30. Shewry PR, Tatham AS. The prolamin storage proteins of cereal seeds: structure and evolution (review article). *Biochem J* 1990; 267: 1 – 12.
31. Oria PM. A highly digestible sorghum mutant cultivar exhibits a unique folded structure of endosperm protein bodies. *Proc Natl Acad Sci United States of America* 2000; 79 (10): 5065 – 5070.
32. Duodu KG, Taylor JRN, Belton PS, Hamaker BR. Factors affecting sorghum protein digestibility. *J Cereal Sci* 2003; 38: 117 – 131.
33. Shewry PR, Halford NG. Cereal seed storage proteins: structures, properties and role in grain utilization. *Journal of Experimental Botany*. 2001; (53) 370: 947 – 958.
34. Oria MP, Hamaker BR, Schull JM. In vitro digestibility of developing and mature sorghum grain in relation to  $\alpha$  -,  $\beta$  -, and  $\gamma$  - kafirin disulfide crosslinking. *J Cereal Sci* 1995; 22: 85 – 93.

35. Mazhar H, Chandrashekar A. Quantification and distribution of kafirins in the kernels of sorghum cultivars varying in endosperm hardness. *J Cereal Sci* 1995; 21:155 – 162.
36. Schwab CG, Tylutki TP, Ordway RS, Sheaffer C, Stern MD. Characterization of protein in feeds. *J Dairy Sci* 2003; 86: (E. suppl): E 88 – E 103.
37. Tham TH, Van Man N, Preston TR. Estimates of protein fractions of various heat – treated feeds in ruminant production. *Livestock Research for Rural Development*, Vol 20, supplement [serial on line] 2008 [citado el 26 de junio de 2009]. Disponible en:  
<http://www.lrrd.org/lrrd20/supplement/tham2.htm>
38. Ayala MM. Carbohidratos solubles, fracciones de la fibra y de la proteína en ensilados con excretas porcinas, esquilmos agrícolas y melaza (Tesis de licenciatura). México (DF): Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, UNAM, 2002.
39. Krishnamoorthy U, Muscato TV, Sniffen CJ, Van Soest PJ. Nitrogen fractions in selected feedstuffs. *J Dairy Sci* 1982; 65: 217 – 225.
40. Viveros ChD. Importancia de la proteína en la nutrición de rumiantes con énfasis en la utilización de las proteínas de especies arbóreas. Seminario – Taller Internacional sobre manejo de la proteína en producción de ganado bovino, 2009 [citado el 11 de junio de 2009] Disponible en:  
<http://www.softwareganadero.com/Articulos/Importancia%20de%20la%20prote%C3%ADna%20en%20la%20nutrici%C3%B3n%20de%20rumiantes.pdf>
41. Licitra G, Hernández TM, Van Soest PJ. Standardization of procedures for nitrogen fractionation of ruminant feeds. *Anim Feed Sci Tech* 1996; 57: 347 – 358.
42. Zinn RA, Alvarez EG, Montano MF, Plascencia A, Ramírez JE. Influence of tempering on the feeding value of rolled corn in finishing diets for feedlot cattle. *J Anim Sci* 1998; 76: 2239 – 2246.

43. Hibberd CA, Wagner DG, Hintz RL, Griffin DD. Effect of sorghum grain variety and reconstitution on site and extent of starch and protein digestion in steers. *J Anim Sci* 1985; 61 (3): 702 – 714.
44. Salinas J, Alvares EG, Zinn RA. Influence of tempering on the feeding value of steam – flaked sorghum for feedlot cattle proceedings. Western Section, American Society of Animal Science. 1999. Vol 50 [citado el 05 de marzo de 2007] Disponible en:  
<http://animalscience.ucdavis.edu/faculty/zinn/pdf/09.pdf>
45. Rush I, Weichtenthal B, Van Pelt B. Grain tempering agent (Sar Temp<sup>®</sup>) for corn in finishing rations. [citado el 05 de marzo de 2007] Disponible en: [http://www.startec.com/pdf/grain\\_tempering\\_agent/11.pdf](http://www.startec.com/pdf/grain_tempering_agent/11.pdf)
46. Mc Allister TA, Wang Y. The effect of tempering with and without Grain Prep<sup>®</sup> surfactant on processing and the utilization of barley by beef cattle. 2000 [citado el 05 de marzo de 2007] Disponible en:  
[http://www.grainprep.com/pdfs/beef\\_research.pdf](http://www.grainprep.com/pdfs/beef_research.pdf)
47. Bidwell RGS. Fisiología vegetal. México: AGT editor, 1979.
48. Wilson LC, Walter EL. Botánica. México: Tipográfica Editorial Hispano – Americana, 1980.
49. Official Methods of Analysis of Association of Official Analytical Chemists. 15<sup>th</sup> ed. Method 934.01. USA: Association of Official Analytical Chemists, 1990.
50. Cochran GW, Cox MG. Experimental designs. 2<sup>nd</sup> ed. Library of Congress catalog, USA: Wiley Publications in Statistics, 1957.
51. Kuehl RO. Principios estadísticos para el diseño y análisis de investigaciones. 2<sup>da</sup> ed. México: Thomson Learning, 2001.
52. SAS. Users Guide Statistics. Versión 9.00 para Windows. SAS Institute Cary, NY. USA.
53. Official Methods of Analysis of Association of Official Analytical Chemists. 15<sup>th</sup> ed. Method 954.01. USA: Association of Official Analytical Chemists, 1990.

54. Chai W. Determination the content of neutral detergent fiber in samples. USA: California University, 1997.
55. SPSS. Users Guide Statistics. Versión 8.00 para Windows.
56. Nutrient Requirements of beef cattle. USA: National Research Council of the National academies (NRC), 2000.
57. Nutrient Requirements of small ruminants: sheep, goats, cervids and new world camelids. USA: National Research Council of the National academies (NRC), 2007.
58. Shimada MA. Nutrición animal. México: Trillas, 2003.
59. Lobato AKS, Oliveira NCF, Costa RCL, Filho SBG, Silva FKS, Cruz FJR, Abboud ACS, Laughinghouse HD. Germination of sorghum under the influences of water restriction and temperature. *Agric J* 2008; 3 (3): 220 – 224.
60. Hsu KH, Kim JC, Wilson LA. Factors affecting water uptake of soybeans during soaking. *Cereal Chem* 1983; 60: 208 – 211.
61. Rodríguez RE, Escalera AMA, Landin MG. Predicción de la composición química del grano de sorgo mediante espectroscopía de reflectancia en el infrarrojo cercano (NIRS). *Tec Pec Méx* 2005; 43 (1):1 – 11.
62. Weiss PW. Randomnes rules: Living with variation in the nutrient composition of concentrate feeds. Mid – South Ruminant Nutrition Conference USA: Ohio State University 2004.
63. Van Soest PJ, Robertson JB, Lewis BA. Symposium: Carbohydrate methodology, metabolism and nutritional implications in dairy cattle. *J Dairy Sci* 1991; 74: 3583 – 3597.
64. Herrera SRE, Huber JT, Poore MH. Dry matter, crude protein and starch degradability of five cereal grains. *J Dairy Sci* 1990; 73: 2386 – 2396.
65. Cañeque MV, Sancha SJL. Ensilado de forrajes y su empleo en la alimentación de rumiantes. España: Mundi – Prensa, 1998.
66. Wood JB. Microbiology of fermented foods. Vol.1. 2<sup>nd</sup> ed. UK: Thomson Publishing, 1998.

67. Elmaki BH, Babiker EE, El Tinay HA. Changes in chemical composition, grain malting, starch and tannin content and protein digestibility during germination of sorghum cultivars. *Food Chem* 1999; 64: 331 – 336.
68. Ciornea EN, Vasile CG, Dumitru CC. On the amylolytic activity of sorghum vulgare. Secțiunea Genetică și Biologie Moleculară. *Analele Științifice ale Universității*. Tom IX. Romania 2008.
69. Salazar PJ. Estudio de la fijación del nitrógeno en el forraje hidropónico de trigo (*Triticum sativum L.*) destinado para la alimentación animal. (tesis de licenciatura). México: Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, UNAM, 2000.

## ANEXOS

### 1. TÉCNICAS UTILIZADAS PARA LA DETERMINACIÓN DE LAS FRACCIONES DE PROTEÍNA

#### 1.1 Determinación de Proteína cruda (método de Kjeldahl)<sup>53</sup> en el Laboratorio de Bromatología del Departamento de Nutrición y Bioquímica (DNAB)

La proteína cruda es un dato obtenido a partir del contenido de nitrógeno en la muestra.

Condiciones de la muestra. La muestra deberá estar homogeneizada, deshidratada y molida con criba 1 mm.

- Aparatos y equipos utilizados:

Balanza analítica con sensibilidad de 0,1 mg

Digestor<sup>°</sup>

Lavador de gases<sup>°°</sup>

Destilador<sup>°°°</sup>

Campana de extracción

Tubos de digestión 42 x 300 mm 300 mL

Matraz erlenmeyer 250 mL

- Materiales requeridos

- Para la preparación de soluciones:

Matraces volumétricos de 2000 mL

Probeta graduada de 500 mL

Pipeta volumétrica 10 mL

Espátula

<sup>°</sup> Büchi K-435.

<sup>°°</sup> Büchi B414.

<sup>°°°</sup> Büchi Kjelflex K-360.

➤ Reactivos:

Agua destilada

Sulfato de potasio ( $K_2SO_4$ ) R. A

Sulfato de cobre pentahidratado ( $CUSO_4 \cdot 5H_2O$ ) R. A

Selenio negro metálico en polvo R. A

Ácido bórico ( $H_3BO_3$ )

Carbonato de sodio ( $Na_2CO_3$ )

Anaranjado de metilo

Ácido sulfúrico concentrado 93-95 % R. A ( $H_2SO_4$ )

Hidróxido de sodio lentejas R. A ( $NaOH$ )

Verde de bromocresol

Ácido clorhídrico ( $HCl$ )

- Preparación de reactivos:

- Mezcla catalizadora

Mezclar 200 g de sulfato de potasio R. A, 20 g de sulfato de cobre pentahidratado R. A y 5 g de selenio metálico en polvo R. A.

- Ácido bórico al 4.0 % (1 L)

Disolver 40 g de ácido bórico en agua destilada, colocar en la parrilla de calentamiento y mantener con agitación hasta que se disuelva, enfriar a temperatura ambiente y aforar.

- Solución de hidróxido de sodio al 20 % (1 L)

Pesar 200 g de hidróxido de sodio R. A y agregarlos a 500 mL de agua destilada, con ayuda de una varilla de vidrio disolver, para evitar la cristalización del hidróxido.

NOTA: Al agregar el reactivo al agua, deberá trabajarse en campana de extracción o en lugares ventilados. Utilizar agua fría ya que se genera una reacción exotérmica, una vez fría la solución, aforar.

- Solución de hidróxido de sodio al 32 % (1L)

Pesar 320 g de hidróxido de sodio R. A y agregarlos a 500 mL de agua destilada, con ayuda de una varilla de vidrio disolver, para evitar la cristalización del hidróxido.

NOTA: Al agregar el reactivo al agua, deberá trabajarse en campana de extracción o en lugares ventilados. Utilizar agua fría ya que se genera una reacción exotérmica, una vez fría la solución aforar.

- Indicador verde de bromocresol (1 L)

En un matraz volumétrico de 1000 mL, disolver con ayuda de una barra magnética 1 g de verde de bromocresol en aproximadamente 950 mL de agua destilada, el indicador presenta un color azul marino intenso.

Con algunas gotas (aproximadamente seis) de ácido sulfúrico (10 %) virar el pH de la solución para que se presente el color verde intenso. Aforar.

- Solución valorada de ácido clorhídrico 0.1 N (2 L)

En un matraz volumétrico con capacidad de 2000 mL agregar 500 mL de agua destilada

Medir con un probeta 17.5 mL de ácido clorhídrico (la concentración del reactivo deberá ser de 36.5 a 38 %, para dar la normalidad deseada)

Aforar a dos litros.

- Solución de carbonato de sodio 0,1 N (1L)

En caso de no contar con solución valorada deberá prepararse de la siguiente manera:

Introducir a la estufa a 80.5 °C durante 18 h poco más de 5,5 g de carbonato de sodio R. A.

Sacar el carbonato de la estufa y dejar enfriar en un desecador.

Pesar con exactitud 5.2996 g o bien la cantidad necesaria conforme a la pureza del reactivo.

En un matraz volumétrico con 1000 mL de agua destilada disolver el carbonato de sodio y aforar.

Indicador de naranja de metilo

En un matraz volumétrico de 100 mL, disolver 100 mg de naranja de metilo. Aforar.

- Valoración del ácido clorhídrico:

Se realiza por duplicado, la cantidad de ácido utilizada para titular la solución contenida en los matraces deberá ser exactamente igual, en caso contrario será necesario repetir la valoración.

Con pipetas volumétricas de 10 mL tomar de la solución de carbonato de sodio 0.1 N y transferirla a matraces Erlenmeyer de 125 mL.

Agregar a cada matraz 3 gotas del indicador naranja de metilo.

Valorar con el ácido clorhídrico del cual se desconoce con precisión su normalidad. La solución cambiará de color naranja a rojizo, si la solución cambia a rosa indicará que se excedió en la cantidad de ácido para valorar.

Con base en la siguiente ecuación se podrá calcular la normalidad:

$$V_1 N_1 = V_2 N_2$$

Donde:

V1 = 10 mL de carbonato de sodio utilizados para la valoración

N1 = normalidad de la solución de carbonato de sodio utilizada 0,1 N

V2 = mL de HCl gastados en la valoración

N2 = normalidad desconocida

Calcular la normalidad con la siguiente ecuación:

$$N_2 = \frac{V_1 N_1}{V_2} = \frac{10 \times 0.1}{\text{mL de HCl gastados}} = \frac{1}{\text{mL de HCl gastados}}$$

En caso de obtener una normalidad superior a 0.1, deberá diluirse la solución con agua destilada, si la concentración es menor, deberá agregarse ácido clorhídrico.

#### MEDIDAS DE SEGURIDAD PARA EL USUARIO

Para la preparación de la mezcla catalizadora deberá utilizarse mascarilla para polvos debido a la alta toxicidad del selenio metálico en polvo.

Para la preparación de las soluciones se deberá trabajar bajo la campana de extracción.

El manejo de los ácidos sulfúrico y clorhídrico, así como el del hidróxido de sodio deberá hacerse con sumo cuidado y empleando equipo de protección (goggles, guantes y mascarilla para vapores).

- Procedimiento:

➤ Digestión

1. Pesar un gramo de la muestra molida. Registrar en la bitácora correspondiente.
2. Colocar en el tubo de digestión, así como también colocar un tubo que servirá de blanco. (El blanco deberá contener todos los reactivos necesarios, exceptuando la muestra).
3. Agregar 1g de mezcla catalizadora y 20 mL de ácido sulfúrico concentrado por las paredes.
4. Con ayuda de la gradilla, colocar los tubos dentro del digestor el cual previamente ha sido precalentado, encender la trampa de gases, colocar el módulo de absorción encima de cada uno de los tubos de digestión, digerir durante  $45 \pm 5$  minutos.
5. Transcurrido el tiempo de digestión, con ayuda de la gradilla y uso de guantes, retirar los tubos del digestor, dejar enfriar, apagar el digestor y la trampa de gases.

➤ Destilación

1. Encender el equipo de destilación.
2. Presionar la opción de precalentamiento la cual se encuentra dentro del menú principal.
3. Una vez que el equipo se encuentra listo, colocar un tubo de digestión y un matraz erlenmeyer de 250 mL vacíos, realizar una limpieza para lo cual es necesario presionar limpieza dentro del menú principal.
4. Una vez terminada la limpieza, colocar el tubo con la muestra a destilar y un matraz perfectamente rotulado de 250 mL dentro del equipo de destilación.

5. Presionar la opción de determinación dentro del menú principal, posteriormente presionar “muestra” y finalmente “start”.
6. Al finalizar la destilación, retirar el matraz y con ayuda de las pinzas retirar el tubo de digestión el cual se encuentra caliente.
7. Repetir los puntos 4 y 5 para cada una de las muestras a trabajar.
8. Realizar una limpieza después de correr 6 tubos.
9. Al terminar la sesión realizar dos limpiezas más siguiendo el punto 3.
10. Apagar el equipo y cerrar la llave de agua.
11. Desconectar el equipo de la corriente eléctrica y limpiar con una franela húmeda el equipo.

➤ Titulación

1. Titular con la solución valorada de HCl el contenido del matraz Erlenmeyer hasta el cambio a verde nuevamente. Cuando se ha excedido con el ácido de la titulación el cambio en el contenido del matraz es a color amarillo y es necesario repetir la determinación.
2. Restar del volumen de titulación el volumen gastado para titular el blanco.
3. Los residuos generados serán colectados en garrafón para su tratamiento por neutralización y posterior disposición en el drenaje.

Para calcular la proteína cruda contenida en la muestra se aplica la siguiente ecuación:

$$\% \text{ PC} = \frac{\text{mL de HCl} \times \text{N del ácido} \times 0.014 \times 6.25 \times 100}{\text{g de muestra}}$$

Donde:

mL HCl = mL de HCl 0,1 N gastados en la titulación – los gastados en el blanco

N = normalidad del ácido

0.0147 = meq de N / 100

Suponiendo que las proteínas tienen un contenido invariable de 16% de nitrógeno, el factor que resulta es de  $100/16 = 6.25$ .

1.2 Determinación de Nitrógeno insoluble (N ins) en el Laboratorio de  
Bromatología del DNAB  
**(Fracciones B2 y B3)**

- Aparatos y equipos utilizados:

Estufa a 50°C  
Platina de calentamiento  
Balanza de precisión con sensibilidad de 0.1 mg\*  
Balanza analítica\*\*  
Campana de extracción  
Vortex  
Aparatos de análisis de nitrógeno Büchi (digestión, destilación y titulación)

- Material requerido:

Espátula  
Matraces volumétricos  
Tubos de ensaye  
Matraz Erlenmeyer con capacidad de 300 mL  
Embudos de tallo largo de 7 cm de largo  
Rodajas de papel Wathman no. 1 adecuadas a los embudos

- Preparación de reactivos:

- Solución Buffer para la extracción de nitrógeno insoluble (1L)

Fosfato de sodio monohidratado ( $\text{NaH}_2\text{PO}_4\text{H}_2\text{O}$ ) 12.20 g

Borato de sodio decahidratado ( $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$ ) 8.91 g

En un matraz volumétrico con capacidad de 1000 mL que contenga 500 mL de agua destilada, disolver 12.20g de fosfato de sodio y 8.92g de borato de sodio. Aforar y medir el pH el cual deberá estar en 6.8. Para si el pH de la solución es elevado, este se disminuye con unas gotas de fosfato de sodio diluido, en el caso contrario se utiliza borato de sodio. Para mantener la solución con pH estable esta debe prepararse en el día de la determinación y solo tiene una duración de una semana manteniéndose en refrigeración.

\* Explorer Ohaus E1B120.

\*\* Sartorius BL1205.

- Solución de alcohol terbutílico al 10 %:

Alcohol terbutílico terciario ((CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>COH) R. A.

En un matraz volumétrico con capacidad de 1000 mL y conteniendo 500 mL de agua, agregar 100 mL de alcohol terbutílico terciario y mezclar la solución y aforar. La presentación del alcohol es en forma de gel por lo que este deberá calentarse en baño maría a 26 °C, para obtenerlo en estado líquido y medirlo.

- Procedimiento:

1. Pesar 0.5 g de muestra liofilizada y molida.
2. Colocarla en el tubo de ensaye.
3. Agregar 5 mL de alcohol terbutílico al 10 %.
4. Agregar 5 mL de buffer borato – fosfato. Agitar la solución con vortex.
5. Durante una hora se dejarán las muestras en el tubo de ensaye y se agitarán a intervalos de 5 minutos.
6. Filtrar en papel Wathman el contenido del tubo en un matraz Erlenmeyer de 300 mL.
7. Enjuagar con 50 mL de la solución de borato – fosfato y 250 mL de agua destilada, tanto el tubo de ensaye como la rodaja de papel filtro.
8. Recuperar la solución en un vaso de precipitado para su posterior utilización.
9. La rodaja se deshidrata y se analiza posteriormente con el método de determinación de nitrógeno (digestión, destilación y titulación).
10. Correr un blanco al mismo tiempo que las muestras.

Cálculo de los resultados:

Para calcular la cantidad de nitrógeno insoluble en Base Seca (BS) de la muestra es necesario aplicar la siguiente fórmula, y al ser multiplicado por el factor 6.25 se expresa el resultado como proteína cruda insoluble (P ins).

$$\% \text{ N ins} = \frac{\text{mL de HCl} \times \text{N del ácido} \times 0.014 \times 6.25}{\text{g muestra}} \times 100$$

Donde:

mL HCl = mL de HCl gastados en la titulación menos los gastados en el blanco.

N = normalidad del ácido (0.1).

0.0147 = meq de nitrógeno / 100.

6.25 = gramos de proteína que contiene 1 g de Nitrógeno.

Para conocer la fracción de nitrógeno soluble en forma de proteína cruda se resuelve la siguiente ecuación:

$$\% \text{ N soluble} = \% \text{ PC} - \% \text{ N insoluble}$$

Donde:

% PC = porcentaje de proteína total en base seca (100%) de la muestra analizada.

**N soluble = Fracciones A y B1.**

1.3 Determinación de Nitrógeno soluble verdadero (NSV) en el Laboratorio de  
Bromatología del DNAB  
**(Fracciones A y B1)**

- Aparatos y equipo utilizado:

Balanza de precisión con sensibilidad de 0.1 mg\*

Balanza analítica\*\*

Campana de extracción

Platina de calentamiento

Equipo de vacío para la filtración con trampa correspondiente (adaptable al embudo Büchner)

Aparatos de análisis de nitrógeno Bücher (digestión, destilación y titulación)

- Material requerido:

Espátula

Matraces volumétricos de 1000 mL

Vasos de precipitado de 250 mL de capacidad

Embudos buchner

Papel filtro con porosidad de 20 – 22 micrones adecuadas al embudo

Pipeta volumétrica de 1 mL

Probetas de 25 mL

Vidrio de reloj

- Preparación de reactivos:

- Solución de sulfato de cobre al 6 % (1L)

Sulfato de cobre (CuSO<sub>4</sub>) RA.

En un matraz volumétrico con capacidad de 1000 mL que contenga 700 mL de agua destilada disolver con ayuda de una bala magnética 60 g de sulfato de cobre. Aforar.

- Solución de hidróxido de sodio al 1.25 % (1L)

Hidróxido de sodio (NaOH) RA.

En un matraz volumétrico con capacidad de 1000 mL y conteniendo 500 mL de agua destilada disolver 12.5 g de hidróxido de sodio, dejar enfriar y aforar.

\* *Ibid*, pág. 96.

\*\* *Ibid*, pág. 96.

- Solución de ácido clorhídrico al 50 % (1L)

Ácido clorhídrico (HCL) R. A.

En un matraz volumétrico con capacidad de 1000 mL que contenga 450 mL de agua destilada, agregar 500 mL de ácido clorhídrico. Dejar enfriar y aforar.

- Procedimiento:

1. En un vaso de precipitado de 250 mL se colocan 70 mL del filtrado obtenido en la técnica de nitrógeno insoluble y soluble. Agregar 1 mL de ácido clorhídrico al 50 % y colocar en la platina de calentamiento.
2. Dejar ebullicir durante 10 minutos, agregar 25 mL de la solución de cobre al 6 % se debe mantener la ebullición durante 10 minutos más.
3. Agregar 25 mL de hidróxido de sodio al 1.25 % hasta que se observe la formación de un precipitado blanquecino.
4. Retirar el vaso de la platina y cubrirlo con un vidrio de reloj. Dejar reposar 24 horas.
5. Pasado este tiempo filtrar en la rodaja Wathman con ayuda de un poco de vacío.
6. La rodaja se deshidrata en estufa de aire forzado a 50°C y se analiza con el equipo de determinación de nitrógeno (digestión, destilación y titulación).
7. Correr un blanco al mismo tiempo que las muestras.

Cálculo de los resultados:

Para calcular la cantidad de nitrógeno soluble verdadero (NSV) en base seca de la muestra es necesario aplicar la siguiente formula y al ser multiplicado por el factor 6.25.

$$\% \text{ NSV} = \frac{\text{mL de HCL} \times \text{N del ácido} \times 0.014 \times 6.25}{\text{g de muestra}} \times 100$$

Donde:

mL HCl = mL de HCl gastados en la titulación menos los gastados en el blanco.

N = normalidad del ácido.

0.0147 = meq de N / 100.

6.25 gramos de proteína que contiene 1 g de N.

$$\% \text{ NNP (Fracción A)} = \% \text{ N soluble} - \text{NSV}$$

1.4 Técnica utilizada por el Dr. Weizhong Chai para la determinación de  
Fibra Detergente Neutro (FDN)<sup>54</sup>  
**(Fracciones B2 y B3)**

- Aparatos y equipos utilizados:

Parrilla de calentamiento  
Baño maría  
Equipo de filtración

- Materiales requeridos:

Bala de agitación  
Jarras de vidrio con capacidad de 150 mL y tapas de rosca  
Papel filtro con porosidad de 20 – 22 micrones  
Alfa amilasa termoestable

- Preparación de reactivos:

- Solución FND (1L)

Fosfato disódico anhidro	4.56 g
Tretaborato de sodio	6.81 g
Lauril sulfato de sodio	30 g
EDTA	14.61 g
Etilenglicol	10 mL

Nota: Si el EDTA no es disódico se agregan 4 g de hidróxido de sodio

Se agrega el lauril sulfato de sodio en aproximadamente un litro de agua destilada previamente calentada y se disuelve con ayuda de una bala de agitación.

Agregar el EDTA (ácido etilendiamino tetra acético) y disolver. Agregar el tretaborato de sodio y posteriormente el fosfato disódico anhidro.

Agregar el etilenglicol y agitar hasta homogeneizar la solución.

Aforar.

Verificar el pH el cual debe estar en un rango entre 6.9 – 7.1

Barnstead (lab line)

Si el pH se encuentra por debajo de 6.9 agregar hidróxido de sodio a la solución para elevarlo.

Si el pH se encuentra por arriba de 7.1 agregar a la solución ácido clorhídrico 1:3 para descender el pH.

➤ Procedimiento:

1. Pesar 1.000 g de muestra y colocarlas en jarras de cristal de 150 mL.
2. Pesar 0.500 g de sulfito de sodio y agregar a las jarras.
3. Agregar 100 mL de la solución de FND, tapar y agitar las jarras.
4. Colocar las jarras en baño maría a 90 °C y cubrir la tapa con papel aluminio para evitar que se escape vapor o agua durante el tiempo de incubación.
5. Agitar las muestras manualmente dos veces durante el tiempo de incubación dejar las muestras en el baño maría toda la noche.
6. Al día siguiente, en la mañana, agitar las muestras nuevamente. Dos horas antes de filtrar las muestras, agregar enzima alfa amilasa termoestable (0.6 mL por muestra de grano), y agitar nuevamente. Colocar nuevamente las muestras en el baño maría para filtrar pasadas las dos horas restantes.
7. Filtrar las muestras en un equipo de filtración en papel filtro previamente deshidratado y pesado.
8. Lavar el residuo con acetona para eliminar el exceso de solución.
9. Doblar el papel con el residuo de FND y deshidratar en estufa de aire forzado a 50 °C y pesar la rodaja.
8. Para determinar la cantidad de nitrógeno insoluble en detergente neutro, la rodaja se analiza con el equipo de determinación de nitrógeno (digestión, destilación y titulación).
9. Correr un blanco al mismo tiempo que las muestras.

Cálculo de resultados:

Para calcular el porcentaje de Fibra Neutro Detergente:

$$\% \text{ FND} = \frac{(\text{PR} + \text{M}) - \text{PRS}}{\text{g de muestra}} \times 100$$

Donde:

PR + M = peso de la rodaja más muestra deshidratada

PRS = peso de la rodaja sola deshidratada

Para calcular la cantidad de nitrógeno insoluble en detergente neutro en Base seca de la muestra es necesario aplicar la siguiente fórmula:

$$\text{N ligado a FDN} = \frac{\text{mL de titulación} \times \text{N del ácido} \times 0.014 \times 6.25}{\text{g de muestra}} \times 100$$

Donde:

mL HCl = mL de HCl gastados en la titulación menos los gastados en el blanco.

N = normalidad del ácido.

0.0147 = meq de N / 100.

6.25 = gramos de proteína que contiene un gramo de N.

1.5 Técnica modificada del Dr. Weizhong Chai para la determinación de Fibra Detergente Ácido (FDA)<sup>54</sup>

**(Fracciones B3 y C)**

- Aparatos y equipos utilizados:

Baño maría  
Equipo de filtración

- Materiales requeridos:

Bala de agitación

Jarras de vidrio con capacidad de 150 mL y tapas de rosca

Papel filtro con porosidad de 20 – 22 micrones

- Preparación de reactivos:
  - Solución Ácido – Detergente (1L)

Bromuro de cetiltrimetilamonio                      20 g

Ácido sulfúrico (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) R. A.                      27 mL

En un matraz con capacidad de 1000 mL se colocan aproximadamente 500 mL de agua destilada previamente calentada, con ayuda de una barra magnética diluir el Bromuro y esperar a que la solución esté fría para agregar el ácido sulfúrico y aforar.

➤ Procedimiento:

1. Pesar 1.000 g de muestra y colocarlas en jarras de cristal de 150 mL.
2. Agregar 100 mL de la solución de FAD, tapar y agitar las jarras.
3. Colocar las jarras en baño maría a 90 °C y cubrir la tapa con papel aluminio para evitar que se escape vapor o agua durante el tiempo de incubación.
4. Agitar las muestras manualmente dos veces durante el tiempo de incubación dejar las muestras en el baño maría toda la noche.
5. Al día siguiente, en la mañana, agitar las muestras nuevamente. Colocar nuevamente las muestras en el baño maría para filtrar pasadas las dos horas restantes.
6. Filtrar las muestras en un equipo de filtración en papel filtro previamente deshidratado y pesado.

*Ibid*, pág. 101.

7. Lavar el residuo con acetona para eliminar el exceso de solución.
8. Doblar el papel con el residuo de FAD y deshidratar en estufa de aire forzado a 50 °C, pesar la rodaja.
10. Para la determinación de la cantidad de nitrógeno insoluble en detergente ácido la rodaja se analiza con el equipo de determinación de nitrógeno (digestión, destilación y titulación).
11. Correr un blanco al mismo tiempo que las muestras.

Cálculo de resultados:

Para obtener el porcentaje de FAD contenido en los alimentos, los cálculos se realizan de la siguiente manera:

$$\% \text{ FAD} = \frac{(\text{PR} + \text{M}) - \text{PRS}}{\text{g de muestra}} \times 100$$

Donde:

PR + M = peso de la rodaja más muestra (residuo) deshidratada

PRS = peso de la rodaja sola deshidratada

Para calcular la cantidad de nitrógeno insoluble en detergente ácido en Base seca de la muestra es necesario aplicar la siguiente fórmula:

$$\text{N ligado a FAD} = \frac{\text{mL de titulación} \times \text{N del ácido} \times 0.014 \times 6.25}{\text{g de muestra}} \times 100$$

Donde:

mL HCl = mL de HCl gastados en la titulación menos los gastados en el blanco.

N = normalidad del ácido.

0.0147 = meq de N / 100.

6.25 = gramos de proteína que contiene un gramo de N.

**Cálculos:**

**Fracción A = N soluble – N soluble verdadero**

**Fracción B1 = N soluble verdadero**

**Fracción B2 = N insoluble – N insoluble en detergente neutro**

**Fracción B3 = N insoluble en detergente neutro – N insoluble en detergente ácido**

**Fracción C = N insoluble en detergente ácido**

**Comprobación: A + B1 + B2 + B3 + C = 100% = N total**