

01621
69

**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA
DE MEXICO**

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA



**DETERMINACION DE LAS FRACCIONES DE PROTEINA Y
CARBOHIDRATOS SOLUBLES EN ENSILADOS DE EXCRETAS
PORCINAS FRESCAS CON ESQUILMOS AGRICOLAS
Y MELAZA.**

T E S I S

**PRESENTADA ANTE LA
DIVISION DE ESTUDIOS PROFESIONALES
DE LA
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA
DE LA
UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO**

**PARA LA OBTENCION DEL TITULO DE
MEDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA
P O R
ALEIDA VIOLETA PEÑALVER ROJAS**



**ASESORES:
MVZ. MC. FRANCISCO A. CASTREJON PINEDA
MVZ. MC. PEDRO OCHOA GALVAN**

MEXICO, D. F.

2003

A



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

**DETERMINACIÓN DE LAS FRACCIONES DE PROTEÍNA Y
CARBOHIDRATOS SOLUBLES EN ENSILADOS DE EXCRETAS
PORCINAS FRESCAS CON ESQUILMOS AGRÍCOLAS Y MELAZA.**

Tesis presentada ante la
División de Estudios Profesionales de la
Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia

de la

Universidad Nacional Autónoma de México
para la obtención del título de
Médico Veterinario Zootecnista

por

Aleida Violeta Peñalver Rojas

Asesores:

MVZ. MC. Francisco A. Castrejón Pineda
MVZ. MC. Pedro Ochoa Galván

México, D. F.,
2003

La conquista de este sueño la dedico con todo mi corazón a mis padres
Agustina Rojas M. y Pablo Oswaldo Peñalver P.
por su fortaleza espiritual que día a día ha guiado mi camino,
ayudándome a levantar el vuelo en los momentos difíciles.

Estoy eternamente agradecida con mis abuelos *Esperanza Padrón, Epifania Medina y Salvador Rojas* por su sacrificio en algún tiempo incomprensido.

También quiero agradecer a mis hermanos porque sé que no importa el tiempo ni la distancia, siempre estarán a mi lado.

Hoy y siempre le agradezco a todo el personal del Departamento de Nutrición Animal y Bioquímica de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia por acogerme como a un miembro más y por el apoyo sin condición.

Manifiesto mi agradecimiento a la Sra. *Fermina Atlixqueño Palma* por compartir conmigo su experiencia en el trabajo de laboratorio y por la amistad que me brindó.

A *José Alfredo Jiménez García* un grato reconocimiento por su apoyo, cariño, comprensión y confianza.

Jamás podría olvidar a los Doctores *Francisco A. Castrejón Pineda y Pedro Ochoa Galván* quienes pusieron mucho de sí en la realización de este trabajo.

Mi profunda gratitud al H. Jurado por sus valiosos consejos y amistad

Por lo que ha sido, es y será.

GRACIAS

A. V. P. R.

CONTENIDO

	<u>Página</u>
RESUMEN.....	1
ABSTRACT.....	2
1. INTRODUCCIÓN.....	3
2. MATERIAL Y MÉTODOS.....	12
3. RESULTADOS.....	16
4. DISCUSIÓN.....	18
5. CONCLUSIONES.....	25
6. LITERATURA CITADA.....	27
7. ANEXO.....	30
8. FIGURAS.....	31
9. CUADROS.....	34

INDICE DE FIGURAS

	<u>Página</u>
Figura 1. Fracciones de la proteína.....	31
Figura 2. Promedio del contenido de las fracciones proteicas (%) por tratamiento después de ensilar.....	32
Figura 3. Promedio del contenido de carbohidratos solubles (mg/g) por tratamiento después de ensilar.....	33

INDICE DE CUADROS

	<u>Página</u>
Cuadro 1. Contenido de las fracciones proteicas A, B1, B2, B3 y C, expresadas como porcentaje de la proteína cruda, por ingredientes y por tratamientos antes y después de ensilar.....	34
Cuadro 2. Contenido de carbohidratos solubles (mg/g) por ingredientes y por tratamientos antes y después de ensilar.....	35
Cuadro 3. pH y Humedad de los ingredientes y de los tratamientos antes y después de ensilar.....	36

RESUMEN

PEÑALVER ROJAS, ALEIDA VIOLETA. Determinación de las fracciones de proteína y carbohidratos solubles en ensilados de excretas porcinas frescas con esquilmos agrícolas y melaza, se realizaron 8 tratamientos con 4 repeticiones cada uno; cada tratamiento incluyó paja de avena (PA) o rastrojo de maíz (RM) en diferentes proporciones (15, 18, 21 y 24%) las cuales se complementaron con distintos niveles de EF (77, 74, 71, y 68%) y una cantidad fija de melaza (8%). Las variables a determinar fueron las fracciones proteicas: A (nitrógeno no proteico), B1 (proteína verdadera degradable rápidamente en rumen), B2 (proteína verdadera degradable tanto en rumen como en intestino), B3 (proteína verdadera no degradable en rumen asociada con paredes celulares) y C (proteína verdadera no degradable en rumen ni aprovechable intestinalmente) que se obtuvieron como un porcentaje de la proteína total que contenían las muestras en base seca, los valores fueron analizados a través de un análisis de varianza multivariado. En general, dentro de cada forraje, los tratamientos ensilados mostraron un comportamiento similar: la fracción A fue la más abundante ($44.96 \pm 5.48\%$) seguida por la fracción B2 ($31.26 \pm 2.77\%$), mientras que las fracciones B1 ($11.83 \pm 3.74\%$), C ($8.20 \pm 1.59\%$) y B3 ($3.76 \pm 1.96\%$) se hallaron en menor cantidad. Las fracciones de la proteína A y B1, presentaron diferencias de acuerdo al nivel de inclusión de EF; mientras que el tipo de forraje, PA o RM, es un factor que produce cambios en las fracciones B3 y C. También se determinó la cantidad de carbohidratos solubles (CS) de acuerdo al tratamiento y los valores se analizaron por medio de un modelo completamente al azar. A pesar de que la PA (82.83 mg/g) tuvo mayor cantidad de CS que el RM (78.57 mg/g), los ensilados con uno u otro esquilmo agrícola no mostraron diferencias en el contenido de CS. Sin embargo, la cantidad de carbohidratos solubles en los ensilados se modifica de acuerdo con el nivel de inclusión de EF que se utiliza para su elaboración. De esta investigación se desprende que los tratamientos T2 (18% PA, 74% EF y 8% Melaza) y T7 (21% RM, 71% EF y 8% Melaza) son la mejor opción para ser utilizados como ingredientes en una ración para rumiantes.

ABSTRACT

PEÑALVER ROJAS, ALEIDA VIOLETA. Determination of protein fractions and soluble carbohydrates in swine manure ensiled with roughages and molasses (Under the direction of MVZ. MC Francisco A. Castrejón Pineda and MVZ. MC. Pedro Ochoa Galván).

The purpose of this study was to determine the concentration of protein fractions and of soluble carbohydrates in silages made with varying levels of fresh swine feces (FF, 77, 74, 71 and 68%) and roughages (either oat straw, OS, or corn stover, CS, at 15, 18, 21 and 24% of inclusion) with a fixed amount of molasses (8%). Each one of the eight treatments had four repetitions and the protein fractions measured were A (non-protein nitrogen), B1 (quickly degradable true protein in rumen), B2 (degradable true protein in rumen as well as in the intestine), B3 (non-degradable true protein in rumen associated with cell walls) and C (non-degradable true protein in rumen and non-usable intestinally). Values were obtained as a percentage of total protein on a dry-weight basis and were analyzed through a multivariate analysis of variance. In general, within each roughage the ensiled treatments showed a similar behavior. Fraction A was the most abundant ($44.96 \pm 5.48\%$) followed by fraction B2 ($31.26 \pm 2.77\%$), whereas fractions B1 ($11.83 \pm 3.74\%$), C ($8.20 \pm 1.59\%$) and B3 ($3.76 \pm 1.96\%$) were found in a smaller concentration. Fractions A and B1 showed differences according to the level of inclusion of FF, whereas type of roughage, OS or CS, was a factor that produced changes in fractions B3 and C. The amount of soluble carbohydrates was also determined in each treatment and the data were analyzed as a completely randomized design. Although OS had a greater amount of soluble carbohydrates (82.83 mg/g) than CS (78.57 mg/g), there was no difference in their concentration among the different treatments. However, the concentration of soluble carbohydrates in the silages was modified according to the level of inclusion of FF. The results in this investigation indicated that treatments T2 (18% OS, 74% FF and 8% molasses) and T7 (21% CS, 71% FF and 8% molasses) were the best options as ingredients in a ration for ruminants.

DETERMINACIÓN DE LAS FRACCIONES DE PROTEÍNA Y CARBOHIDRATOS SOLUBLES EN ENSILADOS DE EXCRETAS PORCINAS FRESCAS CON ESQUILMOS AGRÍCOLAS Y MELAZA.

I. INTRODUCCIÓN

El conocimiento de la composición química de los alimentos permite que se utilicen de forma racional en la alimentación animal; al mismo tiempo, permite incorporar en forma de ingredientes productos desconocidos o aquellos que en condiciones naturales son dañinos pero que, mediante ciertos procesos pueden ser usados con confianza ⁽¹⁾. Este conocimiento debe dirigirse a obtener información para el control de calidad y evaluación nutritiva, y los datos analíticos deben permitir predecir el grado de utilización del alimento por parte del animal ⁽²⁾.

El análisis de los alimentos ha sido practicado por el hombre desde tiempos inmemorables, en los que podrían llamarse análisis sensoriales. Posteriormente, los hebreos, cristianos y mahometanos establecieron reglas con respecto al consumo de ciertos alimentos, basados principalmente en la experiencia con ellos ⁽¹⁾. Sin embargo, el análisis cuantitativo de los componentes de un alimento, probablemente se inició hasta 1775, en Inglaterra cuando Pearson determinó las proporciones de agua, almidón, fibra, materia extractiva y cenizas, reconociendo también la presencia de grasa, ácidos y azúcares en las papas ⁽¹⁾.

Un gran avance tuvo lugar en 1859-1861; Henneberg y sus colaboradores, en la estación agrícola de Weende, Alemania, elaboraron los métodos para el análisis proximal de un alimento. El cual consta de las siguientes determinaciones: Humedad, materia seca, proteína cruda, extracto etéreo, fibra cruda y cenizas ⁽¹⁾.

En cuanto a Proteína Cruda, se sabe que el elemento característico es el nitrógeno, y el método de cuantificación de éstas, en el análisis de Weende, se basa en la determinación del contenido total de nitrógeno de la muestra, suponiendo entonces, que todo el nitrógeno se halla en forma de proteína. Esto no es correcto, en el sentido estricto, para ningún alimento, pues también contienen cantidades considerables de compuestos nitrogenados no proteicos como aminoácidos libres, amidas, aminas, imidas, nitratos, amoniaco, etc.; por lo tanto, el método de Kjeldahl no estima el contenido real de proteína ⁽¹⁾.

Por ello, en el caso de los rumiantes, el National Research Council actualmente propone que la proteína cruda de los alimentos, con base en la actividad ruminal, está constituida por 5 fracciones que difieren mucho en sus índices de degradación y sobrepaso ⁽²⁾.

Estas fracciones son descritas como: fracción A o nitrógeno no proteico (NNP) transformado a amoniaco en rumen; fracción B1 o proteína verdadera degradable rápidamente en rumen; la fracción B2, también proteína verdadera, una parte es degradada en rumen y otra escapa al intestino delgado; fracción B3 o proteína verdadera no degradable en rumen asociada con paredes celulares, que actúa como proteína de sobrepaso sumándose a la proteína microbiana y a la proteína endógena para constituir la proteína metabolizable que se digiere en intestino; finalmente fracción C, no degradable en rumen ni aprovechable intestinalmente ⁽³⁾.

Además del nitrógeno degradable en rumen, es necesaria una adecuada cantidad de energía fácilmente disponible, ya que son factores que limitan la síntesis microbiana y con ello, el máximo aprovechamiento de los nutrientes de la ración. Precisamente, la principal función de los carbohidratos solubles es proveer esa energía necesaria para iniciar la actividad celololítica de los microorganismos ^(4,5).

Por lo tanto, el crecimiento microbiano es máximo, sólo cuando existen en el rumen todos los substratos requeridos por los microorganismos. Estos substratos pueden ser simples (azúcares, amoníaco) o complejos (aminoácidos, péptidos, ácidos grasos de cadena ramificada, etc.). Por lo tanto, un desbalance en la disponibilidad de substratos disminuye la tasa de crecimiento de los microorganismos y, en consecuencia, la actividad fermentativa y digestibilidad de la ración ⁽⁵⁾.

De acuerdo con el NRC, los carbohidratos se dividen en dos fracciones: Carbohidratos Solubles o No Estructurales (CS) constituidos por ácidos orgánicos, azúcares, almidones y fructanos, que se encuentran dentro del contenido celular, así como también sustancias pecticas y β -glucanos que conforman parte de la pared celular, al igual que los Carbohidratos Fibrosos o Estructurales (CF), constituidos por hemicelulosa y celulosa, los cuales están unidos a un grupo de compuestos denominados lignina ^(3, 6, 7).

Estos últimos (CF) se determinan por medio del sistema de detergentes o técnica de Van Soest que estima con mayor exactitud la porción denominada fibra cruda en el análisis de Weende ⁽²⁾. Los CS se calculan analizándolos conjuntamente porque son muchos los tipos incluidos en esta fracción, haciendo impracticable su determinación individual. Usualmente, utilizando estas determinaciones, los CS se estiman por diferencia $CS = 100 - (\%PC + \%FND + \%EE + \%Cenizas)$ ⁽⁸⁾. Sin embargo, debido a la poca sensibilidad del análisis de Weende no se estiman correctamente, acarreando problemas en el balanceo adecuado de las raciones y con ello aumenta el costo de las mismas ⁽³⁾.

Por otro lado, la industria pecuaria, en la actualidad, enfrenta varios problemas para mantener un nivel de producción acorde con los cambios económicos que sufre el país. El continuo aumento del costo de las materias primas para la elaboración de alimentos, la dificultad para su abastecimiento oportuno y la dudosa calidad de las mismas, hace que los

subproductos vegetales y animales sean una alternativa en la alimentación animal para disminuir costos. Un claro ejemplo es el uso de excretas porcinas que son fuente rica de nitrógeno, calcio, fósforo, potasio, cobre y zinc; no así de energía. Además, están disponibles todo el año, ya que en promedio un cerdo produce 5.4 Kg. de heces y orina al día y, se estima que en México hay aproximadamente 15 millones de cerdos, lo que representa una producción diaria de 81.000 toneladas de excretas frescas^(9, 10).

Es tal la cantidad de estiércol que generan las granjas porcinas, que el gobierno ha implementado leyes como la NOM-001-ECOL-1996, NOM-002-ECOL-1996 y NOM-003-ECOL-1997, las cuales establecen los límites máximos permisibles de las descargas de desechos residuales a las aguas y bienes nacionales y obligan a los productores a presentar acciones u obras para el control de sus descargas, porque como agente contaminante de las aguas superficiales, el estiércol de cerdo es altamente nocivo por su naturaleza ácida con pH de 6.0 a 6.5, además contiene una alta concentración de materia orgánica susceptible de ser putrescible y su demanda biológica de oxígeno se encuentra entre 40,000-50,000 mg/l. Así mismo, los elevados niveles de nitrógeno y principalmente de fósforo que son excretados en las heces forman compuestos insolubles en un medio ácido. Tan solo existe un rango de pH (alrededor de 6.5) en el que el fosfato se mantiene soluble y es cuando se presenta el riesgo de lixiviación debido a que no es totalmente aprovechado por las plantas, entonces los excedentes se infiltran y contaminan los mantos freáticos, lo que provoca la eutrofización de las aguas y la intoxicación masiva tanto de la población humana como animal^(9, 10, 11). Por ello, los ganaderos se han visto en la necesidad de buscar nuevas alternativas para el procesamiento de las excretas animales, entre las que se encuentra su aprovechamiento como alimento⁽¹²⁾.

Sin embargo, su uso en forma directa, sin ningún tratamiento previo, es inadecuado porque se reciclan microorganismos patógenos y se favorece la contaminación ambiental. Por esta razón, se ha propuesto el ensilaje de las excretas que reduce gran cantidad de esos microorganismos, al mismo tiempo minimiza las pérdidas de nutrientes y aumenta la gustosidad para los animales al disminuir los malos olores por la presencia del ácido láctico (10, 12, 13). Así mismo, existen datos que confirman que la inclusión de ensilados de excretas porcinas en la dieta de cerdos en finalización y borregos, no ocasiona problemas ni de consumo ni de digestibilidad, tampoco afecta las variables productivas de ganancia diaria de peso y conversión alimenticia (10, 11, 13, 14).

El ensilaje es un proceso de fermentación, bajo condiciones anaeróbicas, principalmente de forrajes frescos u otros alimentos con el objeto de preservarlos. Se trata de un proceso sencillo que no depende de las condiciones climatológicas para que se realice, pero en ocasiones presenta fallas y para controlarlas es importante conocer los cambios bioquímicos que ocurren. (15).

Después de que el forraje es cosechado y picado, éste continúa respirando dentro del silo absorbiendo el oxígeno presente y eliminando CO₂, agua y calor; esto produce pérdida de proteína y favorece la hidrólisis de los glúcidos solubles por acción de las enzimas vegetales (15).

Al mismo tiempo, y tras la acción de las enzimas de la planta, se desarrollan rápidamente las bacterias que se encuentran en la superficie del forraje, el suelo y el aire, generando diferentes tipos de fermentación. Esta microflora crece empleando como sustrato el jugo liberado por las células vegetales que mueren por falta de oxígeno. Al comienzo se desarrollan las bacterias coliformes que transforman los azúcares en ácido acético y anhídrido carbónico, produciendo también pequeñas cantidades de ácido fórmico y de ácido

láctico contribuyendo así a la acidificación del ensilado. Si el pH es menor a 5.5 y hay ausencia total de oxígeno, se desarrollan las bacterias lácticas que actúan sobre los glúcidos produciendo ácido láctico únicamente. Cuando la cantidad de ácido láctico formado es suficiente para que el pH descienda a 4 o menos, se inhibe totalmente la actividad y desarrollo de todas las bacterias, incluyendo las lácticas, así como la acción de las enzimas de la planta, llegando entonces a una situación de estabilidad en el ensilado, lo que permite la conservación de los nutrimentos ⁽¹⁵⁾.

Estos ensilados deben incluir cierta proporción de ingredientes secos para disminuir el contenido de humedad que se recomienda sea de 70%, tal es el caso de los esquilmos agrícolas que son una enorme reserva de forraje toseco susceptible de utilizarse en la alimentación animal, ya que en el país se producen alrededor de 74 millones de toneladas de diferentes especies agrícolas, en las que destacan el rastrojo de maíz con 55% y la paja de trigo con 11% de la producción ⁽¹¹⁾. No obstante, dichos subproductos lignocelulíticos presentan limitaciones nutricionales como bajo contenido de humedad, carbohidratos solubles y proteína, así como gran cantidad de paredes celulares con poca digestibilidad por su alto contenido de lignina aunado a su gran voluminosidad, lo que trae como consecuencia el bajo consumo voluntario por parte de los animales ⁽⁵⁾.

Cuando los forrajes son pobres en carbohidratos solubles y se mezclan con excretas frescas para elaborar ensilados, es importante adicionar una fuente de carbohidratos de fácil disposición que favorezca la fermentación láctica, como la melaza ⁽¹⁰⁾, la cual es un subproducto que se obtiene después de haber cristalizado la mayor parte del azúcar existente en el jugo de caña y que está constituida por un 20 a 25% de humedad, 0.5% de proteína aprovechable y 55% de azúcares solubles ⁽¹⁶⁾.

Se recomienda incluir de 6-8% de melaza en los materiales a ensilar para obtener un producto de buena calidad, ya que en estudios previos se comprobó que el aumento o disminución de la cantidad recomendada provoca menor contenido de ácido láctico, pH superior a 4 y fermentación acético-butírica, la cual es indeseable ⁽¹¹⁾. Lo anterior es debido a que los esquilmos tienen una cantidad insuficiente de azúcares de fácil fermentación que aporten la energía necesaria para iniciar el trabajo celulolítico de los microorganismos y, la suplementación energética con melaza provee esa energía ayudando a la formación de ácido láctico y a la disminución del pH en tanto se instaura la condición de anaerobiosis, momento en el cual se desarrollan las bacterias lácticas. Por el contrario, si el pH no desciende lo suficiente debido a la falta de azúcares y/o a un elevado poder tampón ⁸⁸ del material a ensilar, se desarrollan las bacterias butíricas que atacan a los azúcares residuales y al ácido láctico ya formado, transformándolos en ácido butírico ^(8, 12).

Es importante mencionar que si la melaza no está disponible, puede ser sustituida por otras fuentes de carbohidratos como granos de cereales molidos, pulpa de cítricos, pulpa seca de remolacha, planta de maíz completa, caña de azúcar picada o cualquier otro ingrediente rico en carbohidratos que este disponible en la región ^(9, 10, 11, 13).

⁸⁸ El poder tampón es la resistencia que opone el material que se pretende ensilar a las variaciones de pH a través de ciertos compuestos químicos, como el contenido de proteína, ácidos orgánicos (cítrico, málico, etc.)

Justificación

El problema de contaminación que causa la acumulación de grandes cantidades de excretas en las granjas porcinas y la gran cantidad de residuos agrícolas que se producen en el país ha guiado a los investigadores a estudiar las características que ofrecen esos esquilmos agrícolas e industriales y las excretas como fuente de nitrógeno no proteico para su uso en la alimentación de rumiantes, ya que estos últimos pueden utilizar en forma eficiente los carbohidratos estructurales, gracias a la acción enzimática de los microorganismos del rumen; mismos que pueden sintetizar proteína a partir del nitrógeno no proteico. Estos compuestos finalmente son convertidos a carne y leche para el consumo humano, por lo que es indispensable obtener información que permita generar conocimiento acerca de las posibilidades y limitaciones que ofrecen estos subproductos dentro de los sistemas de producción pecuaria existentes en el país.

Por lo tanto, es necesario realizar más investigación que permita conocer el verdadero valor nutricional y caracterizar las fracciones de la proteína y los carbohidratos solubles en los ensilados elaborados con excretas porcinas frescas y esquilmos agrícolas para hacer un uso más eficiente de estos componentes y favorecer con ello la alimentación del ganado.

Hipótesis

- La cantidad de fracciones de la proteína y carbohidratos solubles en ensilados de excretas porcinas frescas (EF) con esquilmos agrícolas y melaza será similar independientemente del tipo de forraje: paja de avena (PA) o rastrojo de maíz (RM), que sea utilizado para su elaboración.
- La cantidad de fracciones de la proteína y carbohidratos solubles en los ensilados de EF con esquilmos agrícolas y melaza se modificará dependiendo del nivel de inclusión de excretas.

Objetivos

Cuantificar la cantidad de fracciones de la proteína y carbohidratos solubles que contienen los ensilados de EF con esquilmos agrícolas y melaza.

Objetivos específicos:

- 1.- Determinar el contenido de fracciones de la proteína y carbohidratos solubles en las mezclas con distinta relación EF – PA y EF – RM antes y después de ensilar, así como de cada ingrediente.
- 2.- Conocer cuál es la mejor proporción entre EF – PA o EF – RM para ensilar, de acuerdo con su aporte de proteína verdadera y carbohidratos solubles.

2. MATERIAL Y MÉTODOS

La investigación se desarrolló en el Laboratorio de Bromatología del Departamento de Nutrición Animal y Bioquímica de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la UNAM.

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**

Elaboración de los ensilados

Las EF provenían de una granja porcina de ciclo completo, situada en el poblado de Santa Cecilia, delegación Xochimilco, D.F. Esta delegación tiene un clima templado subhúmedo con lluvias en verano y precipitación pluvial de 600-1000 mm, la temperatura media anual es de 12-18°C y abarca un territorio de 62,746 Km² localizándose a una altura de 2,240 msnm*. Las EF se recolectaron por medio de paleo de los corrales de desarrollo y finalización, introduciéndose en bolsas de plástico para ser llevadas al laboratorio donde se homogeneizaron y mezclaron a mano en recipientes de plástico con PA o RM picados aproximadamente a 2 cm de tamaño de partícula, y melaza en cantidad uniforme (8%). Se realizaron los diferentes tratamientos en cuanto a su relación EF - PA y EF - RM quedando de la siguiente manera, con cuatro repeticiones cada uno:

Tratamiento	% Paja	% Excretas	% Melaza
1	15	77	8
2	18	74	8
3	21	71	8
4	24	68	8

Ensilados con paja de avena (PA)

Tratamiento	% Rastrojo	% Excretas	% Melaza
5	15	77	8
6	18	74	8
7	21	71	8
8	24	68	8

Ensilados con rastrojo de maíz (RM)

* INEGI, 1991

En bolsas de plástico se tomó una muestra de aproximadamente 250 g de cada tratamiento antes de ensilar y se conservó en congelación a -20°C para su posterior análisis. Después de llevar a cabo el muestreo, las mezclas se ensilaron en microsilos de plástico con capacidad para 1.2kg, compactando perfectamente y extrayendo el aire por medio de una bomba de vacío; las tapas se sellaron con silicón para evitar la entrada de aire. Pasados 30 días se abrieron los microsilos y se eliminaron 4 cm de la parte superior, el contenido se homogeneizó y se tomó una muestra de 100 g para determinar pH y humedad según Tejada ⁽¹⁾, el resto del contenido fue vaciado en una bolsa de plástico que se congeló (-20°C) hasta el momento del análisis.

Los silos se destaparon después de 30 días porque en estudios anteriores se observó que después de este tiempo desaparecen totalmente las enterobacterias, y la viabilidad de los huevos y larvas infectantes (L3) de parásitos como *Ascaris suum* disminuye ^(9,11).

Análisis de Laboratorio

Las muestras se deshidrataron por liofilización para realizar las determinaciones en base seca. Las fracciones de la proteína (A, B1, B2, B3 y C) se obtuvieron por medio de la técnica de Krishnamoorthy (Figura 1) ⁽¹⁷⁾. La proteína total (PC) y la proteína verdadera (PV) se cuantificaron según la técnica descrita por AOAC ⁽¹⁸⁾. El análisis de paredes celulares [fibra detergente neutro (FND) y fibra detergente ácido (FAD)] y el contenido celular se realizó de acuerdo con lo descrito por Van Soest ⁽¹⁹⁾, modificado por el Laboratorio de Bromatología del Departamento de Nutrición Animal y Bioquímica de la FMVZ de la UNAM. Los carbohidratos solubles se determinaron según Johnson et al ⁽²⁰⁾ Anexo 1.

Diseño Experimental

Se realizaron 8 tratamientos con 4 repeticiones cada uno utilizando un diseño completamente al azar; cada tratamiento incluyó PA o RM en distintas proporciones (15, 18, 21, 24%), las cuales se complementaron con diferentes niveles de inclusión de EF (77, 74, 71, 68%) y una cantidad fija de melaza (8%). Las variables a determinar fueron las fracciones proteicas A, B1, B2, B3 y C que se obtuvieron como porcentaje de la proteína total que contenían las muestras en materia seca. También se determinó la cantidad de Carbohidratos solubles de acuerdo al tratamiento.

Se aplicó una prueba de simetría la cual permitió determinar si las variables de respuesta (fracciones) estaban distribuidas de manera independiente (no correlacionadas). Criterio de Mauchly's ⁽²¹⁾, lo que apoya el uso del análisis estadístico utilizado.

Los valores de las fracciones proteicas antes mencionadas se sometieron a un análisis de varianza multivariado para determinar si existía efecto del tratamiento sobre ellas ⁽²²⁾. Estos valores son las variables dependientes o de respuesta y la variable independiente fue el tratamiento; teniendo entonces el siguiente modelo estadístico:

$$X_{tj} = \mu + T_t + \varepsilon_{tj}$$

Donde:

X_{tj} = Arreglo matricial de los valores de las variables de respuesta; $t = 1-8$, $j = 1-4$.

μ = Media de la población.

T_t = Efecto del tratamiento (1-8).

ε_{tj} = Error correspondiente a las observaciones.

Los valores de carbohidratos solubles se analizaron por medio de un modelo completamente al azar para estudiar el efecto del tratamiento ⁽²¹⁾. El modelo estadístico para carbohidratos fue:

$$Y_{ij} = \mu + T_i + \epsilon_{ij}$$

Donde:

Y_{ij} = Variable a medir.

μ = Media de la población.

T_i = Efecto del tratamiento (1-8).

ϵ_{ij} = Error experimental NID $(0, \sigma\epsilon^2)$.

En ambos casos, la diferencia entre medias se comparó utilizando la prueba de contrastes lineales, empleando el paquete estadístico SAS ⁽²¹⁾.

3. RESULTADOS

Fraciones de la proteína.

Los resultados de las fracciones proteicas de los ingredientes y de las mezclas antes de ensilar se muestran en el Cuadro 1.

En general, dentro de cada forraje, los tratamientos ensilados mostraron un comportamiento similar: la fracción A fue la más abundante (44.96 ± 5.48 %) seguida por la fracción B2 (31.26 ± 2.77 %), mientras que las fracciones B1 (11.83 ± 3.74 %), C (8.20 ± 1.59 %) y B3 (3.76 ± 1.96 %) se hallaron en menor cantidad (Cuadro 1) (Figura 2).

En el análisis multivariado se encontraron diferencias significativas ($P < 0.01$) entre los tratamientos, por lo que se procedió a realizar contrastes lineales para determinar cuales tratamientos eran diferentes (Cuadro 1).

Al comparar los tratamientos (T) que contenían PA con los que contenían RM, se observó diferencia estadística significativa en las fracciones A, B1, B3 y C ($P < 0.01$), mientras que la fracción B2 no presentó diferencia significativa ($P > 0.05$). Las fracciones A (48.10 ± 4.97 %) y B3 (4.63 ± 1.11 %) se hallaron en mayor cantidad en los tratamientos con PA, en tanto que en los tratamientos con RM fueron mayores la B1 (13.97 ± 3.57 %) y C (9.11 ± 1.79 %) (Cuadro 1).

También se realizó la comparación entre los tratamientos que contenían el mismo tipo de esquilmo, encontrando que en PA, el T3 (21% PA, 71% EF y 8% melaza) difirió de los demás ($P < 0.01$) en las fracciones A y B2. En los tratamientos con RM, el T7 (21% RM, 71% EF y 8% melaza) fue diferente al resto ($P < 0.01$) en las fracciones A y B1 (Cuadro 1).

Carbohidratos solubles.

Al someter los valores de carbohidratos solubles al análisis estadístico, se encontraron diferencias entre tratamientos ($P < 0.05$) dentro de cada forraje, de acuerdo con la proporción de EF, sin embargo la prueba de contrastes mostró que no hubo diferencias ($P > 0.05$) al comparar los tratamientos que llevaban PA con los que llevaban RM.

En ambos casos, la concentración de carbohidratos solubles fue mayor conforme disminuyó la inclusión de EF (Cuadro 2) (Figura 3).

4. DISCUSIÓN

Fraciones de la proteína.

Los tratamientos dentro de cada forraje, siguieron un patrón de comportamiento similar, no obstante hubo diferencias de acuerdo a las distintas proporciones de excretas y esquilmos que se debieron principalmente a las características de solubilidad y degradabilidad de las fracciones proteicas ⁽³⁾.

Las concentraciones de fracción A (NNP), en este trabajo (35.51-54.70%), se encontraron en el intervalo descrito por otros autores (30-65%) ⁽³⁾ y fueron las más abundantes; lo anterior se debió por una parte, a la cantidad de esta fracción que aportaron las EF (33.10%) a los tratamientos, la cual fue mayor en comparación con los residuos sólidos de excretas porcinas (20.13%) confirmando que al deshidratar las excretas hay una pérdida elevada del nitrógeno soluble en el líquido efluente ^(10, 24); y por otra parte, quizás la más importante, la mayor cantidad de fracción A es debida a la proteólisis que ocurre en los forrajes durante el marchitamiento y el ensilaje, ya que las enzimas proteasas hidrolizan las proteínas vegetales en péptidos y aminoácidos. Al mismo tiempo y tras la acción de las enzimas de la planta, se produce un rápido desarrollo de las bacterias presentes en la superficie del forraje, influenciado por el tipo y cantidad de carbohidratos solubles; entre estas se encuentran las bacterias coliformes, que crecen mientras se instaura la condición de anaerobiosis, las cuales degradan los aminoácidos en amoníaco y ácidos grasos volátiles o en aminas, contribuyendo con ello a la transformación de proteína verdadera en NNP. Lo anterior explica porque, en los ensilados, el contenido de compuestos nitrogenados se eleva

en comparación con los ingredientes antes de ensilar y puede representar más del 50% del nitrógeno total ^(3, 15).

Por lo que respecta a la diferencia estadística entre las fracciones dependiendo del tipo de esquilmo usado, se sabe que: la fracción A no se ve afectada por la madurez ni por el tipo de forraje, pero sí por la proteólisis que comienza cuando el forraje es cosechado y se exagera durante el ensilaje por la acción de algunas bacterias que crecen en ciertos momentos del proceso. Por ello, se recomienda el rápido secado parcial de los forrajes cortados y promover las condiciones que favorecen la rápida reducción del pH en los ensilados para disminuir la conversión de PV a NNP ^(3, 25).

Al observar los cambios que sufrieron las fracciones proteicas después del proceso de ensilaje, se aprecia que la proteólisis afectó principalmente a la fracción B1 y en menor medida a la B2 debido a sus características de solubilidad. La disminución de ambas fracciones y el consecuente aumento de la fracción A, no se considera una pérdida en el caso de los rumiantes, debido a que las bacterias ruminales aprovechan ese NNP para su crecimiento, transformándolo en proteína microbiana que, junto con la proteína no degradable en rumen aporta aminoácidos en intestino delgado satisfaciendo así los requerimientos de proteína metabolizable (aminoácidos) del animal ⁽²⁶⁾.

Cañeque ⁽¹⁵⁾ señala que es necesario tener cuidado de que el nitrógeno soluble (fracción A y B1) no exceda el 75% del nitrógeno total, ya que indica que se ha producido una importante degradación de la proteína por acción de bacterias butíricas, lo cual puede ser nocivo para los animales si la ingestión de ese ensilado es abundante, por lo tanto se recomienda disminuir su inclusión en la dieta o suplementar la cantidad requerida de carbohidratos solubles (melaza) para transformar ese nitrógeno en proteína microbiana.

Los valores de la fracción B1, obtenidos en los ensilados de este estudio (11.83%), fueron similares a los de varias dietas para vacas lecheras elaboradas con diferentes ingredientes (10.79%), pero mayores a los hallados en ensilados de residuos sólidos de excretas porcinas (6.1%); lo cual se debe a que la cantidad de esta fracción en los esquilmos utilizados (PA 31.05% y RM 31.92%) es mayor que en los forrajes empleados en la otra investigación (heno de avena 5.84% y caña de azúcar 8.04%)^(24, 27).

No está claro porque la proteína verdadera rápidamente degradable en rumen (B1) fue elevada en los esquilmos usados, puesto que en otros estudios se maneja hasta un 5% de esta fracción para forrajes que tienen tiempo de haber sido cosechados, ya que esta parte de la proteína se merma por la proteólisis que comienza en el momento de hacer el corte^(13, 17, 25, 26, 27). Sin embargo, Krishnamoorthy, et al.⁽¹⁷⁾ reportan que estas variaciones son comunes debido a las características propias de los ingredientes y a los diversos tratamientos a los que fueron sometidos, tales como henuficado, ensilado, rolado, calentado etc.

Es por eso que las diferencias en esta fracción dependiendo del tipo de esquilmo, principalmente se atribuyen a la proteólisis que ocurrió durante el ensilaje, dado que la fracción B1 al igual que la A, no es influenciada por el tipo de forraje ni por la madurez de este⁽²⁵⁾.

La segunda fracción en mayor cantidad fue la B2, al igual que lo encontrado en ensilados de pastos (28.35%) y en gluten de maíz (31.7%)⁽²⁵⁾. En cambio, en los ensilados de residuos sólidos de excretas porcinas mezclados con heno de avena (46.42%) o bagazo de caña (45.65%), y en otros ingredientes tales como pollinaza (45.80%), pasta de algodón (71.66%), caña de azúcar (71.01%), alfalfa (51.6%) y pasto Bromo (43.9%), fue la fracción más abundante^(24, 26, 27).

Por ello es importante señalar que esta fracción es degradable tanto en rumen como en intestino delgado dependiendo de la tasa relativa de digestión, la actividad microbiana y el pH del medio, al mismo tiempo que se ve afectada por las características inherentes de los ingredientes y el estado de madurez del forraje, así como por los procesos de conservación, ya sea heno o ensilaje^(13, 17, 25, 26).

Sin duda, a pesar de que la fracción B2 es afectada por la proteólisis, la especie del forraje y por el grado de madurez, en la presente investigación no se encontraron diferencias entre un esquilmo y otro⁽²⁵⁾.

Respecto a las diferencias en las fracciones A y B2 del tratamiento 3 con el resto de los que contenían PA y del tratamiento 7 en las fracciones A y B1 con los que contenían RM, se cree que se deben a las condiciones específicas que se dieron durante el ensilaje, determinadas por la proporción que guardaban los ingredientes, ya que en ambos casos las diferencias se presentaron en los tratamientos con 21% de esquilmo, 71% de EF y 8% de melaza.

En el caso del tratamiento 3, la fracción A se encontró en mayor proporción (54.70%) y la B2 en menor cantidad (27.03%) en comparación con el resto de los tratamientos con PA (Figura 1); mientras que con RM, el tratamiento 7 tuvo la menor concentración de fracción A (35.51%) y la mayor de fracción B1 (18.90%), lo cual apoya la idea de que las condiciones específicas que se dieron durante el ensilaje moderaron el proceso de proteólisis, el cual influye en la transformación de las fracciones B1 y B2 a NNP.

Por otra parte, la fracción B3 o proteína verdadera ligada a paredes celulares es lentamente degradable en rumen y tiende a escapar para proporcionar aminoácidos en intestino delgado actuando como proteína de sobrepaso^(13, 27). En los ensilados de esta investigación, contrario a lo que se esperaba, las concentraciones de esta fracción fueron las más bajas con un

promedio de 3.76% (Figura 2) al igual que lo encontrado en ingredientes proteicos como el heno de alfalfa antes de la floración que puede contener de 3-5%, pero mayores a las cantidades de fracción B3 referidas en los ensilados de residuos sólidos de excretas porcinas (1.86%) y en la pasta de soya (1%), lo cual se atribuye a las diferencias en el contenido de fibra de dichos ingredientes (24, 27).

A pesar de que los esquilmos contenían una cantidad regular de dicha fracción, las EF tenían un mínimo porcentaje (Cuadro 1) por tal razón al mezclarse para constituir los tratamientos se dio un efecto de dilución, lo que trajo como consecuencia la disminución de esta fracción.

Además de la fracción B3, la proteína no degradable en rumen está constituida por la fracción C y esta última incluye proteínas asociadas con lignina, complejos de proteína-taninos y productos de Maillard que son altamente resistentes a las enzimas microbianas y de los mamíferos, por tal virtud es indisponible durante su paso por el tracto gastrointestinal, y no es conveniente que los alimentos tengan grandes cantidades de esta fracción (17).

De acuerdo con Krishnamoorthy (17), algunos alimentos pueden contener cantidades importantes de proteína ligada o indigestible como los henos y ensilados, no obstante el contenido de nitrógeno de esta fracción varía según la muestra y el tratamiento previo que haya recibido, como en el caso del gluten de maíz y la pasta de soya, en los cuales la fracción C excede a la fracción B3, lo que concuerda con los valores obtenidos en este trabajo (8.20% y 3.75% respectivamente). En los ensilados de residuos sólidos de excretas porcinas con caña de azúcar, ocurrió algo similar, la cantidad de fracción C y B3 fue de 7.87% y 1.86% respectivamente; esto pudo ser causado por la precipitación de algunos

componentes solubles en FND en la solución detergente ácida y, las sustancias que interfieren pueden ser productos de Maillard de pequeño peso molecular ^(17, 24).

De hecho, Cañeque ⁽¹⁵⁾ menciona que es importante considerar que si el valor del nitrógeno ligado a la fibra ácido detergente (fracción C) excede el 15% del nitrógeno total (PC), se puede tener la certeza de que en el ensilado se ha producido un sobre calentamiento, lo que conlleva a una baja en la digestibilidad de la proteína y de la materia seca.

Dado que las fracciones B3 y C tienen relación con la cantidad de paredes celulares, parte de la variación entre esquilmos, se debe atribuir a las diferencias en la constitución físico-química de la pared celular de cada especie forrajera ⁽⁵⁾. Del mismo modo, ambas fracciones, cambian conforme aumenta la madurez de la planta, y la tasa de aumento interactúa con la especie del forraje, además que también varía dependiendo del manejo que se haya realizado después de la cosecha, ya que no se debe olvidar que son residuos ^(5, 25).

Carbohidratos solubles.

Debido a los cambios en la composición química que se dan en las plantas cuando estas maduran, con mayor razón en pajas y rastrojos, hay una disminución en el contenido de nutrimentos, principalmente de nitrógeno y carbohidratos solubles e incremento significativo de los constituyentes estructurales (celulosa, hemicelulosa y lignina) ^(3, 5).

Pero como los glúcidos que forman parte de las paredes celulares (celulosa y hemicelulosa) representan una fuente de energía muy pequeña para las bacterias homo y heterolácticas del ensilaje, estas utilizan los carbohidratos fácilmente fermentables que aporta la melaza, los cuales están constituidos fundamentalmente por sacarosa que puede ser hidrolizada en glucosa y fructosa, azúcares simples que son transformados en ácido láctico o en otros

ácidos de cadena corta, como el acético ^(13, 11, 20). Por esta razón el contenido de CS es menor después del proceso de ensilaje, tal y como ocurrió en los ensilados de este estudio (Cuadro 2) y en otros ^(20, 21).

En esta investigación, a pesar de que la PA (82.83 mg/g) tuvo mayor cantidad de carbohidratos solubles que el RM (78.57 mg/g), los tratamientos con uno u otro esquilmo agrícola no mostraron diferencias en el contenido de carbohidratos solubles. Estos resultados fueron opuestos a los registrados en ensilados de residuos sólidos de excretas porcinas mezclados con heno de avena o caña de azúcar, en los cuales sí influyó el tipo de forraje, lo cual se atribuye a las diferencias propias de cada especie forrajera y a que se cosecharon en un estado vegetativo óptimo ⁽²⁴⁾.

Por otro lado, la concentración de carbohidratos no estructurales en los tratamientos fue mayor conforme disminuyó la inclusión de EF debido al efecto de dilución que tuvieron por su baja concentración de CS (21.02 mg/g), cantidad que fue casi el doble de lo que presentaron los residuos sólidos de excretas porcinas (11.17 mg/g), confirmando así que durante la separación de sólidos y líquidos hay una pérdida elevada de nutrientes en los efluentes ^(10, 24).

Además, la menor inclusión de EF trajo consigo la disminución de la humedad y el consecuente aumento de la materia seca (MS) en las mezclas antes de ensilar, convirtiéndose así, en el principal factor que influye en la disminución del pH de los ensilados (Cuadro 3), lo que determina las condiciones particulares de fermentación de cada ensilado, reflejando al mismo tiempo la calidad de estos, ya que los valores de pH (4.54 - 4.61) y humedad (54.54 - 60.46%) obtenidos en este trabajo son característicos de ensilados de buena calidad ⁽¹⁵⁾.

5. CONCLUSIONES

El tipo de forraje, PA o RM, es un factor que produce cambios en las fracciones B3 y C de la proteína.

En los ensilados de excretas porcinas frescas con esquilmos agrícolas y melaza, las fracciones proteicas A y B1, presentan diferencias de acuerdo al nivel de inclusión de las EF.

Aún cuando el contenido de carbohidratos solubles es distinto en la PA y en el RM, esa diferencia no modifica la cantidad de carbohidratos solubles en los ensilados.

La cantidad de carbohidratos solubles en los ensilados de excretas porcinas frescas con esquilmos agrícolas y melaza varía de acuerdo con el nivel de inclusión de EF que se utiliza para su elaboración.

Por lo tanto, se rechaza la primera hipótesis y se puede afirmar que la variación en la cantidad de fracciones de la proteína y carbohidratos solubles en ensilados elaborados con diferente proporción de esquilmos agrícolas y melaza, se debe a múltiples factores, entre los que destacan la composición química según la madurez y especie del forraje utilizado, así como por la humedad y pH de los ensilados, estos últimos determinados principalmente por el nivel de inclusión de excretas, lo que determina las condiciones específicas de fermentación de cada ensilado.

De acuerdo con los resultados de esta investigación, el T2 con 18% PA, 74% EF y 8% Melaza, presentó las mejores características nutritivas: Baja cantidad de NNP o fracción A (44.90%), mayor cantidad de PV (fracciones B1, B2 y B3) 48.82% y menor proporción de fracción C (6.29%), aunque poca cantidad de carbohidratos solubles (15.14 mg/g).

En el caso de RM, el mejor tratamiento fue el T7 (21% RM, 71% EF y 8% Melaza), que también tuvo menor cantidad de fracción A (35.50%), alta proporción de PV (57.15%), poca fracción C (7.35%) y mayor presencia de carbohidratos solubles (20.33 mg/g).

Los ensilados de EF con PA o RM en las proporciones anteriores son una buena opción para ser utilizados como ingredientes en una ración para rumiantes, ya que presentaron mayor valor nutritivo en comparación con los esquilmos que generalmente tienen un contenido nutricional pobre, además se aprovechan los minerales y el nitrógeno presente en las excretas, favoreciendo su consumo por parte de los animales, con lo cual se ofrece una opción viable para el procesamiento de las heces y se abate el problema de contaminación ambiental que causa la acumulación excesiva de estos desechos.

6. LITERATURA CITADA

1. Tejada HJ. Control de calidad y análisis de alimentos para animales. México: Ediciones del Sistema de Educación Continua en Producción Animal, 1992.
2. Troncoso AH, Meza AML. La calidad de los forrajes. México Ganadero 2001;473:16-23.
3. National Research Council. Nutrient Requirements of Dairy Cattle. 7a Ed National Research Council 2001.
4. González CJ. Alimentación de bovinos, ovinos y caprinos. España: Mundi-Prensa, 1990.
5. Riquelme VE. Suplementación y efectos asociativos en dietas basadas en subproductos agrícolas. Memorias del seminario: Utilización de Subproductos agroindustriales en la alimentación de rumiantes. Chapingo (Edo. Méx.) México: Colegio de Postgraduados, 1984.
6. Hall MB. Understanding the ration carbohydrate puzzle. Hoard's Dairyman 1999; 144:185.
7. Howie M. Forage source, pH, NFC content affect rumen digestion, performance. Feedstuffs 1998;70:9.
8. Hall MB. New fractions can be determined by new methodology. Feedstuffs 2000;72:11-12.
9. Hernández CBC. Determinación de bacterias patógenas en ensilados de excretas porcinas con caña de azúcar (tesis de licenciatura). D.F México: UNAM, 1997.

10. Alvarado RAR. Comportamiento productivo de cerdos en finalización al adicionar ensilado de excretas porcinas en su dieta (tesis de licenciatura). D.F México: UNAM. 1999.
11. Meza MCO. Parámetros productivos y del metabolismo ruminal de ovejas en crecimiento al ofrecer dietas con ensilado de excretas porcinas (tesis de licenciatura). D.F México: UNAM. 2000.
12. Martínez GR, Pradal RP, Castrejón PF, Herradora M, Galván E, Mercado C. Persistence of *Escherichia coli*, *Salmonella choleraesuis*, Aujeszky's Disease virus and Blue Eye Disease virus in ensilages based on the solid fraction of pig faeces. *J. Applied Microbiology*. 2001;91:750-758.
13. Ramírez VFJ. Valor nutricional de ensilados de rastrojo de maíz y cerdaza o gallinaza para borregos con o sin implante de zeranol (tesis de licenciatura). Texcoco (Edo. Méx.) México: UACH. 1990.
14. Zamudio MRA. Digestibilidad de la materia seca y materia orgánica en dietas integrales elaboradas con ensilados de residuos sólidos de excretas porcinas (tesis de licenciatura). D.F México: UNAM. 2001.
15. Cañeque MV, Sancha SJL. Ensilado de forrajes y su empleo en la alimentación de rumiantes. España: Mundi-Prensa. 1998.
16. Subsecretaría de ganadería, Dirección General de Ganadería. La melaza. México (DF): SARH. 1981.
17. Krishnamoorthy M, Muscato TV, Sniffen CJ, Van Soest PJ. Nitrogen fractions in selected feedstuffs. *J. Dairy Sci.* 1982;65:217-225.
18. AOAC. Official Methods of analysis. 15th ed. USA: Association of Official Analytical Chemists. 1990.

19. Van Soest PJ, Wine RH. Use of detergents in the analysis of fibrous feed. *J. Assoc. Offic. Anal. Chem.* 1967;50:50.
20. Johnson RR, Balwani TL, Johnson LJ, McClure KE, Dehority BA. Corn plant maturity. II. Effect on in vitro cellulose digestibility and soluble carbohydrate content. *J. Anim. Sci.* 1966;25:617-623.
21. SAS. System for linear models (computer program) version 6.04. Cary, NC (E.U): Institute Inc. Campus Drive, 1992.
22. Johnson DE. Métodos multivariados aplicados al análisis de datos. México: Internacional Thomson editores, 2000.
23. Steel RG, Torrie JH. Bioestadística: Principios y procedimientos. 2da ed. México: McGraw-Hill, 1992.
24. Ayala MM. Carbohidratos solubles, fracciones de la fibra y de la proteína en ensilados con excretas porcinas, esquilmos agrícolas y melaza (tesis de licenciatura). D.F México: UNAM, 2002.
25. Elizalde JC, Merchen NR, Faulkner DB. Fractionation of fiber and crude protein in fresh forages during the spring growth. *J. Anim. Sci.* 1999; 77:476-484.
26. Pereira ES, De Queiroz AC, Fonseca PM, Roberto CP, Campos VFS, Ferreira ML, Magno FA, Da Silva CL. Determination of protein and carbohydrates fractions, and in vitro degradation rates of the sugar cane, poultry litter and cottonseed meal. *Rev. Bras. Zootec.* 2000; 6:1887-1893.
27. Shannak SK, Südekum H, Susenbeth A. Estimating ruminal crude protein degradation with in situ and chemical fractionation procedures. *Anim. Feed Sci. And Technology.* 2000; 85:195-214.

ANEXO

29-A

Método del Fenol – Sulfúrico

Todas las clases de carbohidratos reaccionan con los reactivos y producen un color estable. La fuerza del ácido sulfúrico puede reaccionar con todos los polisacáridos, por ello es importante excluir la posibilidad de contaminación con fibras de celulosa del papel en las soluciones o en los aparatos.

Si las soluciones de carbohidratos tienen partículas en suspensión se requiere eliminarlas por filtración en papel Whatman num. 1. Para muestras sólidas se recomienda disolver una cantidad conocida en un volumen exacto de agua destilada y filtrar en caso de que presente material insoluble.

Reactivos

- Glucosa grado reactivo.
- Xilosa grado reactivo.
- Fenol grado reactivo en solución al 5%.
- Ácido sulfúrico grado reactivo.

Método

- 1.- Pesar 0.25 g de muestra homogeneizada y molida, depositarla en un matraz Erlenmeyer de 250 ml.
- 2.- Agregar 100 ml de agua destilada y agitar durante 30 minutos, después filtrar.
- 3.- Tomar una alícuota y diluir de acuerdo a la concentración de carbohidratos estimada para que se encuentren dentro del intervalo de sensibilidad del método, de tal manera que en 2 ml de solución final haya entre 5 y 80 μg de carbohidratos.
- 4.- Colocar 2 ml. de la última alícuota en un tubo de ensaye y agregar 1ml. de fenol al 5%, agitar perfectamente y agregar 5 ml de ácido sulfúrico, esperar 5 min. y volver a mezclar.
- 5.- Determinar la densidad óptica de las muestras en el espectrofotómetro a una longitud de onda de 490nm ajustando con un blanco preparado de la misma manera, pero utilizando agua destilada como muestra.
- 6.- Calcular la cantidad de carbohidratos solubles presentes en las muestras a partir de una curva estándar preparada con una solución de glucosa-xilosa.

Curva estándar

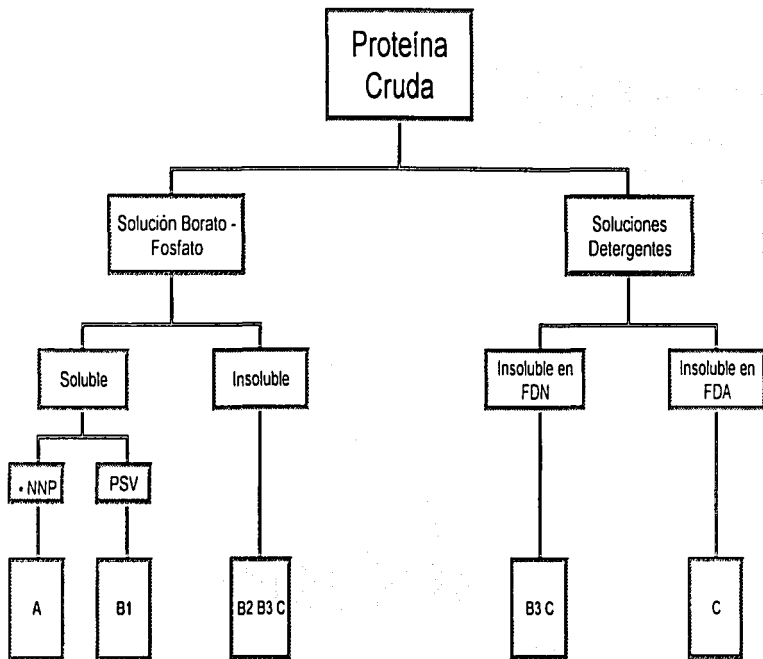
Pesar 1g de glucosa y 1 g de xilosa en un matraz volumétrico de 100 ml. aforar con agua destilada y mezclar hasta disolver. Tomar una alícuota de 2 ml y depositarla en otro matraz de 100 ml, para que a partir de esa solución se realicen las siguientes diluciones de acuerdo con la tabla:

Alícuota (ml)	Aforo (ml)	Concentración $\mu\text{g} / 2\text{ml}$
5	50	80
25	50	40
25	50	20
25	50	10
25	50	5

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

FIGURAS

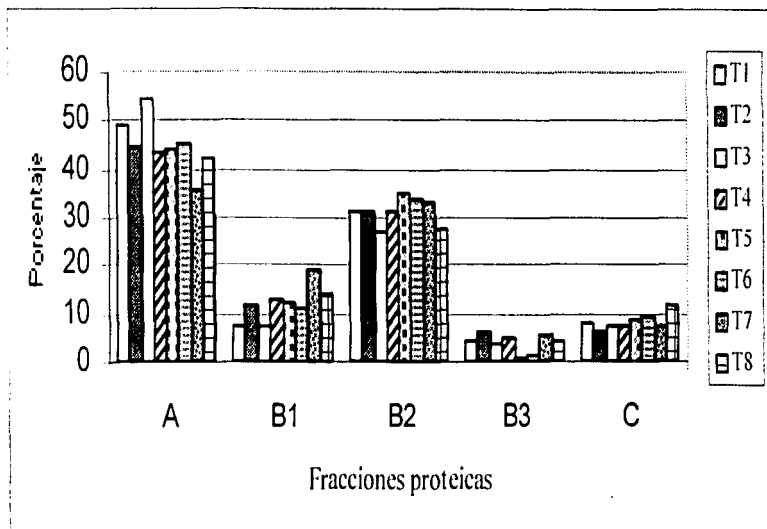
30-A



• NNP = Nitrogeno No Proteico
 PSV = Proteina Soluble Verdadera
 FND = Fibra Detergente Neutro
 FDA = Fibra Detergente Acido

A = Proteina soluble - PSV
 B1 = PSV
 B2 = Proteina insoluble en FDN - Proteina insoluble
 B3 = Proteina insoluble en FDN - Proteina insoluble en FDA
 C = Proteina insoluble en FDA

Figura 1. Fracciones de la proteína (Adaptado de Krishnamoorthy *et al.*, 1982) ⁽¹⁷⁾.



T1 = 15% PA, 77% EF, 8% Melaza

T5 = 15% RM, 77% EF, 8% Melaza

T2 = 18% PA, 74% EF, 8% Melaza

T6 = 18% RM, 74% EF, 8% Melaza

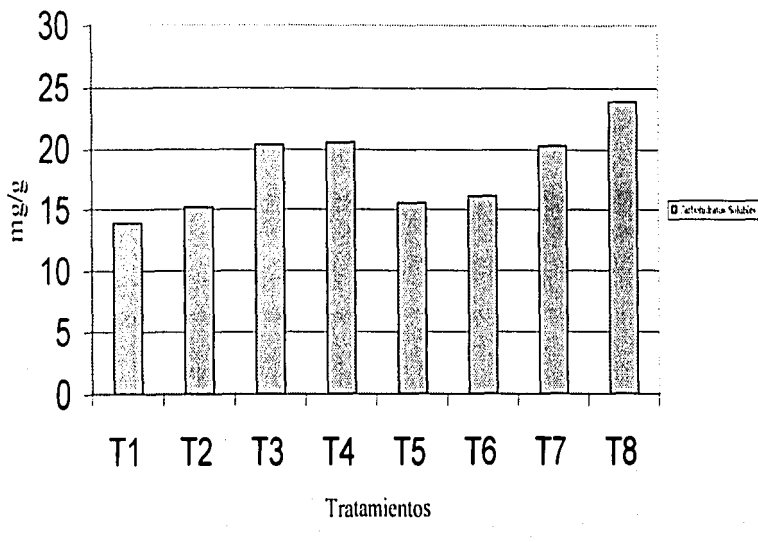
T3 = 21% PA, 71% EF, 8% Melaza

T7 = 21% RM, 71% EF, 8% Melaza

T4 = 24% PA, 68% EF, 8% Melaza

T8 = 24% RM, 68% EF, 8% Melaza

Figura 2. Promedio del contenido de las fracciones proteicas (%) por tratamiento después de ensilar.



T1 = 15% PA, 77% EF, 8% Melaza
 T2 = 18% PA, 74% EF, 8% Melaza
 T3 = 21% PA, 71% EF, 8% Melaza
 T4 = 24% PA, 68% EF, 8% Melaza

T5 = 15% RM, 77% EF, 8% Melaza
 T6 = 18% RM, 74% EF, 8% Melaza
 T7 = 21% RM, 71% EF, 8% Melaza
 T8 = 24% RM, 68% EF, 8% Melaza

Figura 3. Promedio del contenido de carbohidratos solubles (mg/g) por tratamiento después de ensilar.

CUADROS

33-A

CUADRO 1. Contenido de las fracciones proteicas A, B1, B2, B3 y C, expresadas como porcentaje de la proteína cruda, por ingredientes y por tratamientos antes y después de ensilar.

Ingrediente	PC	A	B1	B2	B3	C
• PA	5.54	12.82 ± 2.55	31.05 ± 0.00	13.36 ± 7.15	16.43 ± 4.60	26.35 ± 0.00
RM	5.40	8.56 ± 3.47	31.91 ± 1.21	25.79 ± 0.98	23.56 ± 3.95	10.20 ± 5.23
EF	20.32	33.10 ± 0.44	4.23 ± 0.03	52.80 ± 1.64	2.68 ± 1.27	7.19 ± 0.05

Tratamiento

Antes de ensilar

T1	15.41	27.49 ± 1.17	15.52 ± 0.25	47.87 ± 0.83	3.43 ± 1.66	5.72 ± 0.09
T2	12.13	24.95 ± 0.65	19.71 ± 0.10	45.20 ± 0.81	2.89 ± 0.01	7.26 ± 0.04
T3	12.55	28.23 ± 2.81	19.05 ± 0.19	42.92 ± 2.52	5.58 ± 0.06	4.22 ± 0.04
T4	11.71	30.83 ± 1.84	20.41 ± 0.10	32.28 ± 2.02	11.96 ± 0.06	4.53 ± 0.02
T5	11.71	27.75 ± 1.14	20.42 ± 0.32	44.33 ± 0.70	0.00 ± 0.00	7.52 ± 0.12
T6	12.64	27.87 ± 0.63	18.92 ± 0.37	44.86 ± 1.92	2.81 ± 0.11	5.60 ± 2.06
T7	11.67	35.99 ± 1.09	13.71 ± 0.00	39.68 ± 1.10	6.08 ± 0.00	4.54 ± 0.00
T8	11.58	39.38 ± 1.10	6.91 ± 0.00	43.01 ± 1.10	1.60 ± 2.14	9.11 ± 2.14

Después de ensilar

T1	12.93	49.09 ± 2.09 ^b	7.64 ± 3.49 ^{gh}	31.41 ± 3.17 ^h	4.08 ± 2.47 ⁿ	7.79 ± 0.94 ^a
T2	12.05	44.90 ± 4.33 ^{bc}	11.43 ± 3.39 ^{fg}	31.21 ± 2.13 ^h	6.18 ± 0.78 ⁿ	6.29 ± 2.40 ^a
T3	11.08	54.70 ± 3.89 ^a	7.05 ± 0.34 ^h	27.03 ± 5.47 ⁱ	3.63 ± 1.66 ⁿ	7.58 ± 0.96 ^a
T4	12.45	43.69 ± 2.02 ^c	12.65 ± 0.84 ^f	31.53 ± 0.44 ^h	4.62 ± 1.46 ⁿ	7.51 ± 2.07 ^a
T5	13.15	44.08 ± 2.47 ^a	11.96 ± 0.43 ^j	34.86 ± 2.28 ^m	0.68 ± 0.78 ^p	8.44 ± 1.57 ^b
T6	12.72	45.32 ± 3.91 ^a	10.84 ± 3.27 ^j	33.75 ± 2.99 ^m	1.02 ± 2.03 ^p	9.07 ± 1.59 ^b
T7	11.42	35.51 ± 2.74 ^a	18.90 ± 3.43 ^f	32.80 ± 1.68 ^m	5.45 ± 1.69 ^p	7.35 ± 2.02 ^b
T8	11.06	42.41 ± 4.95 ^a	14.17 ± 5.83 ^j	27.48 ± 0.89 ⁿ	4.38 ± 2.69 ^p	11.58 ± 1.54 ^f

En los ensilados con PA (T1-T4) y RM (T5-T8), distintas literales en la misma columna indican diferencia estadística significativa (P < 0.05)

- PA Paja de Avena
- RM Rastrojo de Maíz
- EF Excretas Frescas
- PC Proteína Cruda en base seca

- A Nitrogeno No Proteico
- B1 Proteína verdadera rápidamente degradable en rumen
- B2 Proteína verdadera degradable tanto en rumen como en intestino
- B3 Proteína verdadera asociada con paredes celulares
- C Proteína verdadera indisoluble

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**

CUADRO 2. Contenido de carbohidratos solubles (mg/g) por ingredientes y por tratamientos antes y después de ensilar.

Ingrediente	Carbohidratos solubles	
• PA	82.83 ± 1.17	
RM	78.57 ± 0.17	
EF	21.02 ± 0.00	
Melaza	523.32 ± 35.94	

	Antes de ensilar	Después de ensilar
T1	76.05 ± 0.49	13.90 ± 1.01 ^a
T2	78.30 ± 0.49	15.14 ± 2.10 ^b
T3	101.70 ± 0.67	20.37 ± 2.20 ^c
T4	102.66 ± 0.67	20.57 ± 4.89 ^d
T5	73.21 ± 0.64	15.52 ± 0.32 ^a
T6	81.20 ± 0.64	16.12 ± 0.39 ^b
T7	94.98 ± 0.65	20.33 ± 2.30 ^c
T8	88.96 ± 0.33	23.87 ± 4.73 ^d

Distintas literales en la misma columna indican diferencia estadística significativa (P < 0.05)

- PA = Paja de Avena
- RM = Rastrojo de Maíz
- EX = Excreta Fresca

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**

CUADRO 3. pH y Humedad de los ingredientes y de los tratamientos antes y después de ensilar.

Ingredientes	pH	Humedad
• PA		6.94
RM		7.07
EF		72.47

Tratamiento Antes de ensilar

T1	6.03	58.58
T2	6.57	56.89
T3	6.14	54.01
T4	5.86	56.11
T5	6.33	57.44
T6	5.94	57.40
T7	6.12	52.09
T8	5.97	51.67

Después de ensilar

T1	4.61 ± 0.06	60.46 ± 0.74
T2	4.54 ± 0.03	58.1 ± 1.02
T3	4.50 ± 0.05	55.32 ± 0.46
T4	4.47 ± 0.03	54.47 ± 1.06
T5	4.61 ± 0.05	59.99 ± 0.33
T6	4.53 ± 0.04	57.12 ± 2.43
T7	4.52 ± 0.04	55.98 ± 1.06
T8	4.52 ± 0.05	54.54 ± 0.55

- PA Paja de Avena
- RM Rastrajo de Maíz
- EF Excreta Fresca