



**TESIS DOCTORAL**

**ESTUDIO DE LA ADECUACION Y VALOR  
NUTRITIVO DEL BAGAZO DE CAÑA DE AZUCAR  
PARA SU EMPLEO EN NUTRICION ANIMAL**

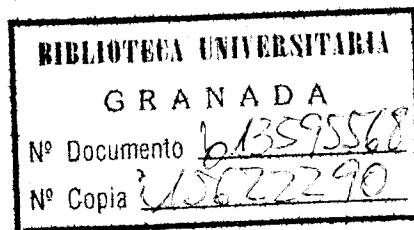
**Eduarda Molina Alcaide**

~~Rev. T 4-3~~

T 6/128

17.50.822

"ESTUDIO DE LA ADECUACION Y VALOR NUTRITIVO  
DEL BAGAZO DE CAÑA DE AZUCAR PARA SU EMPLEO  
EN NUTRICION ANIMAL"



Eduarda Molina Alcaide

Estación Experimental del Zaidín C.S.I.C.



Esta Tesis Doctoral fué dirigida por los Drs. D. Julio Boza López y D. José Fernando Aguilera Sánchez, Profesor de Investigación e Investigador Científico respectivamente de la Estación Experimental del Zaidín (C.S.I.C.) de Granada y leída el 7 de Julio de 1981 ante el tribunal formado por los siguientes Profesores: Dr. D. Luis Recalde Martínez, Dr. D. Gregorio Varela Mosquera, Dr. D. Enrique Montoya - Gómez, Dr. D. Julio Boza López y Dr. D. José Fernando Aguilera Sánchez. Obtuvo la calificación de Sobresaliente "cum laude".

El trabajo ha sido realizado en la Sección de Fisiología Animal de la Estación Experimental del Zaidín (C.S.I.C.). Granada.

"La ciencia actual no puede cons  
tituirse sobre las únicas bases -  
de la razón, la lógica, la expe--  
riencia o incluso la idea de su -  
confrontación sistemática. Requeie  
re la censura de la objetividad -  
que le es consustancial".

(Jacques Monod)

El Azar y la Necesidad

La realización de esta Memoria de Tesis Doctoral ha supuesto para mi una valiosa experiencia no solo a nivel profesional, sino también y muy especialmente a nivel personal.

Agradezco, por tanto, al C.S.I.C. la beca que me ha concedido para llevar a cabo este trabajo.

A la Estación Experimental del Zaidín y a todas las personas de este Centro que directa o indirectamente me han prestado su ayuda.

Al Dr. Fonollá, jefe de la Unidad Estructural de Fisiología Animal, en la que se ha desarrollado la totalidad de mi trabajo.

Quiero expresar mi gratitud más sincera hacia todos aquellos que de una forma u otra han hecho posible mi dedicación a la Fisiología Animal, que ya desde los estudios de Licenciatura me atrajo especialmente.

En primer lugar y de una forma muy particular, a mis padres por la comprensión y ayuda que de ellos he recibido en todo momento para que pudiese hacer aquello que quería, a pesar de las múltiples renunciaciones que para ellos ha supuesto.

Al Dr. Boza, director de esta Tesis, no solo por su valiosa ayuda y acertadas sugerencias sino, y sobre todo, por su actitud llena de cordialidad en todo momento.

Al Dr. Aguilera, así mismo director de este -

trabajo y sin el cual pienso que no hubiera sido posible. Trabajar con él ha resultado sumamente agradable y al mismo tiempo enriquecedor, ya que a su gran calidad humana se unen el rigor científico, una gran capacidad de trabajo y una formación que me ha permitido ir resolviendo los problemas que se han presentado. A él se deben gran parte de los méritos que concurran en este trabajo.

A mis compañeros José Emilio Guerrero, Remedios Sanz, Carlos Prieto, Victor Escandón, Francisca Gil y Antonio Velázquez que desde un principio y a lo largo de las sucesivas etapas que ha supuesto la realización de esta Memoria no solo me han prestado su valiosa ayuda, sino que con su amistad han sabido rodear mi trabajo de un ambiente especialmente agradable.

A los amigos que me han animado a seguir adelante prestándome su ayuda en cualquier momento.

## SUMARIO

	<u>Página</u>
1.- OBJETO .....	1
2.- REVISION BIBLIOGRAFICA .....	7
2.1.- Tratamiento alcalino de subproductos ricos en lignocelulosa .....	8
2.2.- Utilización digestiva de dietas adicio <u>n</u> nadas de nitrógeno no proteico, con - particular referencia al biuret .....	31
2.3.- Naturaleza química y degradación micro <u>g</u> biana de los componentes de la pared celular .....	41
3.- MATERIAL Y METODOS .....	49
3.1.- Diseño experimental .....	50
3.2.- Adecuación del bagazo y preparac <u>o</u> n de las dietas experimentales .....	52
3.3.- Metodología .....	55
3.4.- Técnicas microbiológicas .....	66
3.5.- Técnicas analíticas .....	67
3.6.- Tratamiento estadístico .....	75
4.- RESULTADOS .....	82
4.1.- Resultados analíticos .....	83
4.2.- Resultados experimentales .....	113



	<u>Página</u>
5.- DISCUSION DE LOS RESULTADOS .....	147
6.- RESUMEN Y CONCLUSIONES .....	175
7.- BIBLIOGRAFIA .....	180

1.- OBJETO



## 1.- OBJETO

En las actuales circunstancias de crisis de recursos alimenticios la potenciación del valor nutritivo - de subproductos agrícolas ha adquirido gran importancia - práctica. Es notorio que uno de los mayores desafíos de - los años próximos es la producción de los recursos necesarios para alimentar a la población humana. De acuerdo con la FAO, en 1985 se requerirán cerca de 170.000 Tm de proteína de buena calidad y más de 11.000 millones de Mcal - de energía metabolizable para atender a las necesidades - alimenticias diarias de una población en continuo proceso de expansión. Resulta, pues, inmensa la tarea que supone desarrollar los conocimientos sobre nutrición y adecuar - una tecnología en alimentación para superar este reto en un futuro cercano.

En estas circunstancias el nutriólogo ha de - aprovechar la capacidad de utilización de subproductos y otros recursos ricos en material celulósico, que permiten al rumiante la captación de nutrientes digestibles sin - competir en absoluto con la alimentación del hombre.

El bagazo de caña de azúcar constituye el subproducto más importante desde el punto de vista cuantitativo en el procesado industrial de esta planta. Aunque - su suplementación con proteína, minerales y vitaminas es necesaria para lograr una mínima utilización, esta suplementación por sí misma no elimina los problemas que implican su bajo contenido en energía metabolizable y su - reducida ingesta, que lo hacen absolutamente inadecuado para alcanzar niveles productivos aún moderados. Tal fenómeno es común a buen número de subproductos fibrosos;

a ello se debe el desarrollo de distintos procedimientos físico-químicos diseñados con objeto de incrementar el valor nutritivo de estos recursos. Entre ellos el tratamiento alcalino del subproducto por aplicación de soluciones pulverizadas ha sido objeto de gran atención en la última década. Su empleo para incrementar el valor alimenticio de las pajas de cereales ha elevado considerablemente la disponibilidad de nutrientes digestibles para la población ganadera a nivel mundial.

La climatología subtropical de la zona costera de Andalucía Oriental permite el cultivo de la caña de azúcar (*Saccharum officinarum*) en una amplia franja, cuya profundidad alcanza hasta 8 Km y que comprende las provincias de Almería, Granada y Málaga. Según el Anuario de estadística agraria del Ministerio de Agricultura en el año 1978 se dedicaron al cultivo de la caña de azúcar 4.500 Ha, con una producción de 312.000 Tm. De entre los subproductos a que da lugar destacan las 41.000 Tm de bagazo seco, cuyas características nutritivas lo hacen poco apropiado para su empleo directo en nutrición animal. En efecto, este subproducto es extraordinariamente rico en  $\beta$ -polisacáridos fuertemente asociados con lignina y en menor grado con sílice, lo que limita el acceso de los microorganismos del rumen y el contacto con sus enzimas hidrolíticos. Ello conduce a una degradación excesivamente lenta e incompleta.

En estas circunstancias el tratamiento alcalino del bagazo de caña de azúcar se revela como el proceso de elección con el que es posible provocar un cambio fundamental en la estructura química de la pared celular

por rotura de los enlaces existentes entre las cadenas de polisacáridos y entre éstos y la lignina.

Son muy limitados los estudios llevados a cabo acerca de la acción del NaOH sobre la composición nutritiva y digestibilidad del bagazo de caña de azúcar. En cualquier caso se han seguido técnicas distintas para la aplicación del mismo. De la escasa bibliografía existente es posible deducir que la acción del tratamiento es, en líneas generales, insuficiente para obtener un alimento cuyo valor nutritivo se aproxime al de las pajas de cereales tratadas. Es probable que la prolongación del tiempo de exposición al álcali acentúe la acción de éste sobre los componentes de la pared celular y comunique una mayor degradabilidad potencial a su estructura lignocelulósica.

De otro lado la presencia de sodio residual en el subproducto tratado puede dar lugar a un menor crecimiento de la microflora ruminal, así como a efectos colaterales no deseables.

Los ensayos que comprende esta Memoria de Tesis Doctoral van encaminados a obtener respuesta sobre: a) -- ¿Qué efectos se derivan del tratamiento alcalino del bagazo de caña de azúcar y cuál es el nivel de aplicación de hidróxido sódico más adecuado?; b) ¿Puede el proceso de ensilado del bagazo de caña de azúcar favorecer la acción del álcali o, en último término, mejorar sus características nutritivas?; c) ¿Es posible conservar el bagazo tratado mediante su ensilado?; d) ¿Cuál es la estabilidad del producto una vez fuera del silo?.

Por otro lado parece suficientemente demostrado que las necesidades en nitrógeno de la población microbiana ruminal dependen ampliamente de la cantidad de sustrato que es fermentado. Los nuevos sistemas de valoración de la proteína en los rumiantes hacen uso de estos conceptos. Así mismo hoy es evidente que la capacidad de captación del nitrógeno por la microflora ruminal depende en gran medida de la sincronización de la velocidad de degradación del sustrato energético y de la disponibilidad del nitrógeno para que los microorganismos construyan sus propios aminoácidos. En este contexto, nuestros ensayos pretenden determinar la capacidad de una fuente de nitrógeno no proteico, elegida en función de la naturaleza lignocelulósica del sustrato, para atender aquellas necesidades. Tal planteamiento requiere la utilización de distintos niveles de suplementación y la elección de una fuente nitrogenada de referencia constituida por una proteína de buena calidad, frente a la cual se realiza el estudio comparativo.

Finalmente, se pretende estimar el valor nutritivo de este recurso a partir de los datos recogidos en nuestros ensayos, acerca de la composición química del bagazo de caña de azúcar sometido a concentraciones variables de hidróxido sódico o de resultados derivados de ensayos de fermentación "in vitro" o de digestibilidad "en bolsa de nylon", técnicas estas que intentan simular los procesos digestivos ruminales. Ello obvia la necesidad de acudir a ensayos biológicos de digestibilidad para conocer su capacidad nutritiva.

La valoración en el laboratorio de un alimento de

naturaleza fibrosa pretende la obtención de datos que permitan predecir la amplitud de su degradación ruminal bajo condiciones específicas. Dado que la mayor parte de la -- proteína, azúcares, almidón y lípidos son completamente -- utilizables, el problema queda reducido desde el punto de vista bioquímico a identificar los factores limitantes en el sustrato. De aquí que el sistema de análisis seguido -- en estos ensayos haya sido el ideado por Van Soest (1963) que, en esta línea, da énfasis a los componentes de la -- pared celular.

La potenciación nutritiva del bagazo de caña de azúcar y su valoración constituyen el paso previo a la inclusión de aquél en dietas prácticas. Si el tratamiento -- alcalino y la suplementación del bagazo consiguen incrementos adecuados en su valor nutritivo, se habrá logrado aumentar extraordinariamente los recursos potenciales de -- una zona cuya población ganadera es muy exígua, dadas sus limitadas posibilidades de cultivo de forrajeras. Al propio tiempo se habrá producido una revalorización del cultivo de la caña de azúcar por el valor añadido.

2.- REVISION BIBLIOGRAFICA



## 2.- REVISION BIBLIOGRAFICA

### 2.1.- Tratamiento alcalino de subproductos ricos en lignocelulosa

Distintos aspectos del tema han sido considerados con amplitud por diversos autores en años recientes (Owen, 1976; Jackson, 1977; Greenhalgh, 1978; González - Santillana, 1978; Klopfenstein, 1978; Orskov, 1979).

En términos muy amplios se consideran como materiales fibrosos, residuos, subproductos o materias primas de la agricultura o de la silvicultura que contienen cantidades considerables de fibra bruta y cuyo uso directo como alimento es muy limitado. Esta restricción viene impuesta fundamentalmente por dos hechos: bajo contenido en proteína y extraordinaria riqueza en componentes de la pared celular fuertemente lignificada y a veces asociada con sílice, lo cual dificulta su degradación y hace lenta e incompleta su digestión.

A pesar de su bajo valor nutritivo estos subproductos pueden ser elementos importantes en raciones para rumiantes, bien porque no es posible otra alternativa -- (caso de los países con un bajo nivel de desarrollo), bien para cubrir las necesidades de forraje en las zonas de monocultivos o de agricultura intensiva.

Su contenido en proteína bruta es demasiado reducido para mantener una adecuada actividad ruminal, ya que la flora microbiana del rumen requiere para degradar de forma eficiente el material lignocelulósico que el ---

nivel de nitrógeno en la materia seca de la dieta sea como mínimo del 1% (Pigden y Heaney, 1964). En dietas de mayor digestibilidad las necesidades de nitrógeno pueden alcanzar el 1,5%, porcentaje que, por otro lado, resulta adecuado para lograr el mantenimiento o niveles moderados de crecimiento en vacuno u ovino. Así mismo, en este tipo de materiales los porcentajes de minerales y carbohidratos solubles suelen ser insuficientes para conseguir una degradación eficaz de la lignocelulosa por los microorganismos del rumen.

La baja digestibilidad de estos residuos reduce su contenido en energía metabolizable, lo que se traduce en una pérdida de eficiencia en la utilización de la misma, especialmente para la formación de grasa (Blaxter, 1962), y, del mismo modo, afecta negativamente a su ingesta, que apenas alcanza las 100 Kcal/Kg P<sup>0.75</sup> necesarias para el mantenimiento, ya que han de permanecer mayor tiempo en el rumen y ocupan más espacio (Greenhalgh y Reid, 1967; Baumgardt, 1970; Campling, 1970).

El bagazo de caña de azúcar constituye un típico ejemplo de subproducto obtenido en industrias de transformación. Se emplea fundamentalmente como combustible en fábricas azucareras; en menor proporción se utiliza también en la elaboración de pulpas y pasta de papel, como aislante acústico en construcciones y escasamente en agricultura, como aporte orgánico al suelo, y ganadería, como cama para el ganado, habiéndose utilizado en ocasiones como diluyente en raciones de alta energía destinadas al ganado vacuno.

El valor nutritivo del bagazo de caña de azúcar es, en general, inferior al de otros subproductos agrícolas tales como las pajas de cereales. Su composición químico-bromatológica, distinta en función de la variedad, localización y práctica de cultivo, se caracteriza por un bajo contenido en nitrógeno y carbohidratos solubles y elevado en lignocelulosa (Randel, 1972; Sharma, 1974; Marshall y van Horn, 1975). Los niveles de sílice son menores que en las pajas de cereales y poco importantes desde el punto de vista nutritivo (van Soest y Jones, 1968).

A medida que aumentan las áreas dedicadas a la producción de cultivos utilizados directamente como alimentos para el hombre, los residuos de estas cosechas aparecen más frecuentemente en las dietas de los rumiantes. Por ello, cualquier proceso tecnológico que eleve el valor nutritivo de estos subproductos tendrá amplia significación en el aumento del potencial alimentario para la producción animal. En este contexto merece destacar por su importancia el tratamiento alcalino de forrajes y subproductos fibrosos, con una larga historia que comienza cuando Lehman (1895) sometió a ebullición paja de avena con solución de hidróxido sódico al 2% en la relación 1:2 neutralizándola posteriormente por lavado con agua. Con este proceso consiguió un aumento de veinte unidades porcentuales en su digestibilidad. Beckmann (1921) observó que el calentamiento -proceso evidentemente costoso- no era necesario. Su procedimiento, seguido durante décadas, implica la inmersión del producto fibroso en la solución alcalina y posterior lavado con el fin de eliminar el exceso de la base, lo que provoca la pérdida de buena

parte de los nutrientes solubles (aproximadamente un 25% de la materia seca) y, por consiguiente, de su valor nutritivo. La etapa de lavado resulta engorrosa y supone un gasto adicional, por lo que Wilson y Pigden (1964) y Donefer (1968) simplificaron el método considerablemente --- aplicando sobre el forraje la solución alcalina -de concentración superior a las utilizadas anteriormente- finamente pulverizada, y suprimiendo la fase de lavado. La economía y simplicidad de este proceso le han dado un singular atractivo y, así, el tratamiento alcalino de materiales fibrosos que, al inicio de la década de los sesenta había perdido interés por su escasa competitividad, - encuentra hoy día una amplia aplicación tanto en países desarrollados, como en regiones de escaso potencial alimenticio.

La neutralización del producto mediante la incorporación de ácido acético (Donefer, 1968; Piatkowski y colaboradores, 1974a) o de propiónico (Fernández Carmo y Greenhalgh, 1972) resulta antieconómica y hasta -- cierto punto innecesaria (Mehmet, 1972; Greenhalgh, 1976). El uso de ácidos inorgánicos abarata el proceso de neutralización y conduce a resultados análogos a los que produce la incorporación de ácidos orgánicos (Jayasuriya y Owen, 1975; Jayasuriya, 1979).

Rexen y Thomsen (1976) han ideado un procedimiento industrial de tratamiento con la solución alcalina pulverizada y posterior granulado del material tratado.

Se han empleado, con resultados variables, otros álcalis ( $\text{KOH}$ ,  $\text{Ca}(\text{OH})_2$ ,  $\text{NH}_4\text{OH}$ , etc.), siendo el amoníaco -

anhidro el que presenta mayor interés ya que resulta económico y aplicado a diversas dosis y en distintas condiciones de presión y temperatura (Waagepetersen y Thomsen, 1977; Sundstøl y colaboradores, 1978) eleva el contenido en nitrógeno del subproducto, que puede ser utilizado como fuente de NNP en la síntesis de proteína microbiana - en el rumen, permitiendo así mismo obviar el efecto negativo del exceso de NaOH.

Cualquiera que sea la técnica empleada, el tratamiento alcalino reduce el contenido en constituyentes de la pared celular (FND) (Jones y Klopfenstein, 1967; Ololade y colaboradores, 1971; Klopfenstein y colaboradores, 1972; Anderson y Ralston, 1973; Thomsen y colaboradores, 1973; Gharib y colaboradores, 1975a y b; Summers y Sherrod, 1975; Yu y colaboradores, 1975; Rexen y Thomsen, 1976; Braman y Abe, 1977; Jackson, 1977; Wilkinson y G.Santillana, 1978a; Fernández y Gonzalez, 1979; Arndt y colaboradores, 1980). En términos generales, el tratamiento alcalino disuelve la hemicelulosa, lignina y sílice, no afecta a la celulosa e influye ligeramente sobre la FAD (Ololade y colaboradores, 1970; Thomsen y colaboradores, 1973; Yu y colaboradores, 1975; Rexen y Thomsen, 1976; Wilkinson y G.Santillana, 1978a). El grado de solubilización, que varía en función del tipo de material y de la intensidad de álcali aplicado, puede atribuirse solo parcialmente a la composición del subproducto.

Entre los factores que influyen en la solubilidad del material cabe destacar las diferencias cualitativas en las fracciones de lignina, hemicelulosa y sílice.

ce así como las peculiaridades en su estructura física y en el grado de asociación de las mismas dentro de la pared celular.

El pH y el contenido en sodio del producto tratado aumentan por el tratamiento alcalino (Chandra y Jackson, 1971; Fernández Carmona y Greenhalgh, 1972; Gharib y colaboradores, 1975a; Wilkinson, 1978; Wilkinson y González Santillana, 1978a). El lavado posterior provoca la eliminación de gran parte del material solubilizado, cuya magnitud crece con la intensidad del tratamiento previo. Una parte del hidróxido sódico reacciona con el material fibroso y no puede eliminarse, variando esta cantidad en función de la intensidad del tratamiento y de la naturaleza del producto tratado (Rexen y Thomsen, 1976).

Sharma (1974) obtuvo aumentos regulares en el grado de solubilización del bagazo de caña de azúcar al incrementar la concentración de álcali hasta 15g/100g - de bagazo sin que niveles superiores de la base condujesen a nuevos incrementos de la porción solubilizada. Para ello introducía el bagazo durante 30 minutos en soluciones diluidas de hidróxido sódico en la relación 1:20, lavando posteriormente con 40 volúmenes de agua. La composición porcentual del bagazo de caña de azúcar inicial y del tratado aplicándole la solución al 0,75% era respectivamente: materia seca, 100 y 73; contenidos celulares (SDN), 18 y 4; FND, 82 y 96; hemicelulosa, 29 y 23; celulosa, 40 y 37; lignina, 12,5 y 9,2; sílice, 1,5 y 0,5.

Randel (1972) trató bagazo de caña de azúcar por inmersión con solución al 2% de NaOH; lavó posterior

mente con agua y desecó al sol. La composición del bagazo tratado y bruto era en términos porcentuales: FND, -- 93,2 y 84,2; FAD, 75,26 y 58,0; lignina, 12,0 y 11,3; sílice, 0,6 y 5,4%.

Efecto del tratamiento alcalino sobre la digestibilidad de subproductos.

A este respecto la mayor parte de los estudios se han realizado con pajas de cereales e indican de forma general que la aplicación de álcalis según el sistema -- Beckmann aumenta la digestibilidad de la materia seca y orgánica del producto tratado y modifica favorablemente su ingesta (Jackson, 1977). Así, la digestibilidad de la paja de cebada tratada con 9% de NaOH se elevó del 45 al 71%, aumentando de forma paralela su ingesta en materia seca de 27 a 37g/Kg P<sup>0.75</sup> (Fernández Carmona y Greenhalgh, 1972). El tratamiento con 18 g NaOH/100g de subproducto no condujo a un mayor aumento en la digestibilidad, aunque sí en la ingesta de materia seca (44g/Kg P<sup>0.75</sup>).

La digestibilidad del bagazo de caña de azúcar es menor que la que presentan las pajas de cereales, siendo el grado de mejora que experimenta como consecuencia del tratamiento alcalino igualmente inferior (Verma y -- Jackson, 1975). Un comportamiento semejante presentan -- otros subproductos tales como las cáscarillas de cártamo y cacahuete, serrín de chopo, etc. (Feist y colaboradores, 1970; Guggolz y colaboradores, 1971; Mellenberger y colaboradores, 1971; Choung y McManus, 1976).

En general puede decirse que el incremento en la digestibilidad de la materia seca de productos ricos

en lignocelulosa (fundamentalmente pajas de cereales) tratados con soluciones de hidróxido sódico según el sistema Beckmann se debe al aumento que experimenta la digestibilidad de la celulosa. Fernández Carmona (1972), en ganado ovino, con paja de cebada tratada con un 9% de NaOH, obtiene un aumento en la digestibilidad de este nutriente de 24 unidades porcentuales.

Sharma y Jackson (1975), utilizando la técnica de la bolsa de nylon con paja de trigo y bagazo de caña de azúcar tratados con 15g NaOH/100g de subproducto, obtienen incrementos en la digestibilidad de 15-20 unidades porcentuales.

Martín y colaboradores (1974), en ensayos llevados a cabo en toros Holstein dotados de fístula ruminal alimentados con bagazo bruto o pulpa de bagazo sin tratar o tratados durante 40 minutos a 90°C con 3,6 ó 14g NaOH/100g de subproducto, observaron que la digestibilidad de la materia seca, estimada por la técnica de la bolsa de nylon, era de 3,8 y 9,2% respectivamente para la pulpa de bagazo y bagazo sin tratar, aumentando el álcali estos coeficientes hasta 78,8 y 77,0%, respectivamente. En otro ensayo trataron estos residuos a 100°C con 4,5, 6, 8 ó 14g NaOH/100g de subproducto durante tiempos distintos y a presiones variables, observando que la digestibilidad "in vitro" aumenta con la intensidad del tratamiento alcalino, en tanto que los efectos de la presión y el tiempo eran mucho menos consistentes.

El efecto favorable que el tratamiento alcalino ejerce sobre la digestibilidad parece derivar de la reducción



ción que provoca en la fuerza de unión entre los puentes de hidrógeno de la celulosa (Whistler y Teng, 1970). Ello conduce a un aumento de su capacidad de retención de agua. El álcali puede incluso eliminar elementos de la matriz de la pared celular que limiten el engrosamiento de las fibras de celulosa. La lignina y la sílice se disuelven en menor proporción y las uniones intermoleculares de tipo éster entre ácidos urónicos de la hemicelulosa y celulosa se saponifican (Feist y colaboradores, 1970). Todo ello facilita el contacto del líquido ruminal con el sustrato vegetal y, consecuentemente, la actividad degradativa de sus microorganismos.

En gramíneas Morris y Bacon (1976) han observado que las hemicelulosas presentan gran número de enlaces con grupos acetilo que dificultan su degradación microbiana; el hidróxido sódico hidrolizaría tales enlaces aumentando, por tanto, la digestibilidad del producto sometido al álcali. La lignina de las gramíneas es más soluble en álcali que la de las leguminosas (van Soest, -- 1964).

De acuerdo con Fernández Carmona y Greenhalgh (1972) la mayor digestibilidad de los productos tratados con álcali se debe tanto al material solubilizado por la base, como a los cambios que el tratamiento provoca en el material no solubilizado, el cual se hace más digestible. No obstante, no está claro el que todo el material solubilizado sea cuantitativamente absorbido por el animal directamente o previa degradación por los organismos del rumen; así, el grado en que puede absorberse la porción solubilizada de la lignina permanece aún desconocido --

(Jackson, 1977).

El efecto de la intensidad del tratamiento alcalino, aplicado como solución pulverizada, sobre la digestibilidad "in vivo" del producto ha sido objeto de diversas investigaciones (Chandra y Jackson, 1971; Singh y Jackson, 1971; Klopfenstein y colaboradores, 1972; Ololada y Mowat, 1975; Shin y colaboradores, 1975; Singh y -- Jackson, 1975; Rexen y Thomsen, 1976; McManus y Choung, 1976; Kategile, 1979; Kategile y Frederiksen, 1979). En general, en pajas de cereales se ha encontrado un aumento lineal en la digestibilidad hasta que el nivel de NaOH alcanza 3 - 6g/100g de subproducto, efecto que declina con concentraciones de NaOH superiores a las citadas. Kategile y Frederiksen (1979), ensayando raciones que contenían un 52% de zuros de maíz sometidos a la acción del hidróxido sódico, obtienen un aumento en la digestibilidad de la materia seca de 2,28 unidades porcentuales por gramo de base en 100g de materia seca del subproducto; Singh y Jackson (1971), con raciones en las que el 76% -- era paja tratada, obtienen un aumento de 3,03 unidades -- porcentuales. Klopfenstein y colaboradores (1972), ensayando raciones con el 77% de zuros de maíz tratados, registran incrementos en la digestibilidad de la materia -- seca de 4,07 unidades porcentuales. Para Jayasuriya y -- Owen (1975) el aumento es de 1,87 unidades y para Ololade y Mowat (1975) de 2,80, ensayando una ración en la que el 89% era paja tratada y el resto un concentrado.

El efecto del tratamiento alcalino sobre la ingesta es similar al que ejerce sobre la digestibilidad.

A diferencia del monogástrico, que controla su ingesta fundamentalmente a través de mecanismos homeostáticos (concentración de ciertos metabolitos en sangre), el rumiante regula su ingesta principal, aunque no exclusivamente, por medios físicos, es decir, la cantidad ingerida depende de la capacidad de su tracto digestivo y de la velocidad de paso del alimento, de modo tal que se mantenga un determinado grado de distensión de las paredes del retículo-rumen, al que son sensibles receptores en conexión con el sistema nervioso central. Sólo con alimentos de gran concentración energética los mecanismos homeostáticos desempeñan un papel importante.

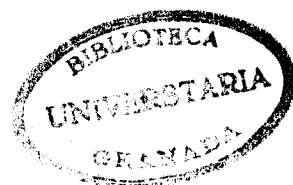
Cuanto más rápida transcurre la degradación del alimento en el retículo-rumen más rápido es el paso de la digesta hacia el omaso y, en último término, la excreción de las correspondientes heces. En consecuencia mayor es la cantidad de alimento que puede ingerir el rumiante en un tiempo dado para mantener ese grado de distensión de las paredes ruminales. Por tanto, la velocidad de degradación y la de vaciamiento en el retículo-rumen -órgano que supone las tres cuartas partes de la capacidad total del tracto digestivo del rumiante- determinan la cantidad ingerida. De aquí la relación existente entre ingesta y digestibilidad de alimento, determinada experimentalmente (Blaxter, 1962; Campling y colaboradores, 1962).

El tratamiento alcalino aumenta la ingesta voluntaria de alimento. El efecto es máximo cuando la base alcanza 3 a 6 g NaOH/100 g de producto (Jackson, 1977), dependiendo de la naturaleza del producto tratado. Se

observa que con las dosis superiores de álcali la ingesta disminuye y puede incluso ser menor que para el producto no tratado (Singh y Jackson, 1971; Fernández Carmona y Greenhalgh, 1972; Jayasuriya y Owen, 1975). En cualquier caso el nivel óptimo de álcali varía con la naturaleza del residuo y con su grado de inclusión en la dieta. Los principales factores que afectan a la ingesta voluntaria de alimento son: contenido en pared celular, velocidad de degradación y velocidad de paso a través del rumen. Precisamente, el contenido en paredes celulares es el factor que está más altamente correlacionado con la ingesta de forrajes (van Soest, 1976; Osbourn, 1978).

El tratamiento alcalino no solo aumenta la digestibilidad de la pared celular sino también la velocidad de degradación (Thomsen y colaboradores, 1973); de aquí que mejore el consumo de forraje.

Los estudios realizados sobre una serie de productos de naturaleza fibrosa parecen coincidir en apuntar un incremento lineal de la digestibilidad "in vitro" al aumentar el nivel de álcali hasta aproximadamente 10g de NaOH/100g de subproducto, cuando la solución pulverizada se aplica en cantidad adecuada para impregnar todo el material (Wilson y Pigden, 1964; Ololade y colaboradores, 1970; Chandra y Jackson, 1971; Klopfenstein y colaboradores, 1972; Gharib y colaboradores, 1975a y b; Rexen y Thomsen, 1976; Kellaway y colaboradores, 1978; Wilkinson, 1978; Wilkinson y Gonzalez Santillana, 1978a; Arndt y colaboradores, 1980; Smith y colaboradores, 1981) o hasta aproximadamente 14g de NaOH/100g de subproducto si se sigue la técnica de Beckmann (Fernández Carmona y Green-



halgh, 1972). Con este procedimiento Randel (1972) encontró un aumento de 19,2 unidades porcentuales en la digestibilidad "in vitro" del bagazo de caña de azúcar tratado con solución de NaOH al 2% frente a la del subproducto inicial (31,9%).

Summers y Sherrod (1975) observan que los mayores incrementos en la digestibilidad "in vitro" de la materia seca de los subproductos tratados con solución alcalina pulverizada se producen en aquellos materiales que experimentan los mayores descensos en el contenido de hemicelulosa y menores diferencias o ningún cambio en la fracción de LAD como consecuencia del tratamiento.

Por otro lado, los niveles óptimos de tratamiento en cuanto a la digestibilidad "in vivo" son muy inferiores a los ya citados para la digestibilidad "in vitro" (Jackson, 1977).

Bergen (1970) observó que la infusión al rumen de cloruro o acetato sódicos disminuía la digestibilidad de la celulosa. Maeng y colaboradores (1971) sugieren -- que la menor respuesta que se observa para la digestibilidad "in vivo" se debe al aumento de la presión osmótica ruminal provocado por los niveles elevados de sodio en la dieta (Ololade y colaboradores, 1972), que inhibe la actividad microbiana (Ololade y Mowat, 1975). De aquí el efecto beneficioso de dilución que ejerce la mezcla del producto tratado con ensilado (Maeng y colaboradores, 1971; Terry y colaboradores, 1975). En los ensayos "in vitro" se utilizan pequeñas cantidades de material tratado con volúmenes muy superiores de líquido ruminal, lo -

que diluye el efecto del pH y del contenido en sodio.

Una segunda explicación podría estar en la elevada ingesta de agua que provoca el consumo de productos tratados con niveles elevados de NaOH, que aumenta la velocidad de paso del alimento a través del rumen y, en consecuencia, hace que los microorganismos dispongan de menos tiempo para llevar a cabo la degradación del material lignocelulósico (Bolduan y colaboradores, 1974; McManus y colaboradores, 1976; Berger y colaboradores, 1980).

La ingesta de agua y el volumen de orina aumentan sensiblemente con el consumo de productos tratados con álcali (Maeng y colaboradores, 1971; Singh y Jackson, 1971 y 1975; Voight y Piatkowski, 1974; Choung y McManus, 1976; McManus y colaboradores, 1976; Pirie y Greenhalgh, 1978; Arndt y colaboradores, 1980).

La bibliografía indica que el sodio extra ingerido con el consumo de subproductos tratados con soluciones pulverizadas de álcali se excreta totalmente en la orina, sin que se afecten la excreción fecal de este elemento ni su nivel en leche (Maeng y colaboradores, 1971; Voigt y Piatkowski, 1974; Choung y McManus, 1976). Parece ser que la eliminación de álcali residual es efectiva con niveles de tratamiento de 3 a 6g de NaOH/100g de material fibroso (Stigsen, 1975; Singh y Jackson, 1975).

No se ha encontrado un efecto nítido del pH del material tratado sobre el del contenido ruminal. Shin y colaboradores (1975) y Mathews y McManus (1976)

registran pequeños aumentos del pH del fluido ruminal -- mientras que Koers y colaboradores (1970) y Ololade y -- Mowat (1975) obtienen el efecto contrario. Es evidente, no obstante, que alteraciones puntuales del pH ruminal - pueden ser causa de modificaciones transitorias en la ac tividad microbiana.

El tratamiento alcalino, en líneas generales, favorece la retención de nitrógeno (Koers y colaborado- res, 1969; Shultz y Ralston, 1974) así como la retención porcentual del mismo (Klopfenstein y colaboradores, 1972; Donaldson y colaboradores, 1976). El balance de nitrógeno se afecta negativamente con los niveles de tratamiento al calino superiores a 3,3g NaOH/100g de subproducto (Singh y Jackson, 1971).

Estos resultados son opuestos a los obtenidos por McManus y colaboradores (1976) que, ensayando en cor deros dietas que contenían cáscara de arroz, observaron - que los niveles superiores de álcali en el subproducto - provocaban descenso en la síntesis de proteína microbia- na ruminal.

Se han realizado numerosos estudios en los que los subproductos tratados forman parte, en un porcentaje más o menos elevado, de la dieta estudiada; así, Maeng y colaboradores (1971) ensayaron en ganado ovino una ración que contenía paja de cebada sometida a la acción del ál- cali en solución pulverizada (6g NaOH/100g de paja), 16% de harina de soja y 3% de minerales, encontrando que la digestibilidad de la energía era del 66,5%. Igualmente utilizaron esta paja tratada y ensilado de alfalfa en la

relación 50:50, 25:75 y 0:100. Admitiendo que la digestibilidad del ensilado es constante para todas las raciones de las que forma parte, calcularon la digestibilidad de la energía para el subproducto bruto o sometido a la acción alcalina en 69,1 y 77,9 respectivamente.

Randel (1972) ensayó en ganado vacuno dietas que contenían 18,45% de maíz; 40,0% de bagazo de caña de azúcar tratado o no con álcali al 2% según la técnica - Beckmann y posteriormente desecado; 27,0% de melazas; - 10,0% de harina de pescado; 2,5% de urea y 2,05% de suplemento minero-vitamínico. Las digestibilidades de la materia seca y materia orgánica, fueron: 68,6 y 55,7% y -- 76,1 y 62,0%, respectivamente para las dietas que contenían el bagazo tratado y las que incluían bagazo bruto. Las raciones con residuo tratado dieron lugar a mayores producciones y mejor calidad de la leche cuando se ensayaron en vacuno lechero (Randel y colaboradores, 1972).

Con anterioridad Stone y colaboradores (1966) habían obtenido resultados análogos a los de Randel (1972).

Fernández Carmona y Greenhalgh (1972), en corderos alimentados con raciones en las que la paja de cebada tratada constituía el 90% de la dieta, observaron aumentos en la ingesta de materia seca del 50% al someter el subproducto a la acción de un 9% de NaOH. Saxena y colaboradores (1971) obtuvieron resultados similares en corderos a los que suministraron una ración con el 65% de paja tratada con álcali. Los resultados de Braman y Abe (1976) muestran aumentos en la ingesta menos espectaculares.

Piatkowski y colaboradores (1974b) utilizaron



en ganado vacuno ensilados que contenían maíz troceado y paja de cebada adicionada con álcali al 5% en las relaciones 100:0, 83:17 y 66:34, encontrando una digestibilidad para la materia orgánica de 69, 69 y 68%, lo que indica que la paja tratada puede sustituir cantidades importantes de ensilado de buena calidad.

Alimentando a corderos con dietas en las que un 50% era paja de cebada tratada o no con 8% de NaOH y un 50% de concentrado previamente adicionado de 3,6% de ácido propiónico, Greenhalgh y colaboradores (1976) observaron que la digestibilidad de la dieta que contenía paja tratada era superior en nueve unidades porcentuales a la que contenía el residuo bruto. Coombe y colaboradores (1979), en corderos alimentados con dietas que contenían paja de cebada adicionada del 4% de sosa y suplementadas con soja, minerales y vitaminas, obtuvieron resultados análogos.

Pirie y Greenhalgh (1978) en vacuno de carne ensayaron dietas formadas solo por cebada y soja o con inclusiones bien del 40% de paja sin tratar, bien del 40 ó 60% de paja tratada (8g NaOH/100g de materia seca), observando que las dietas que contenían paja eran consumidas en mayor cantidad que las formadas solo por el concentrado; el tratamiento alcalino mejoraba significativamente la ingesta aumentándola en un 12%. La digestibilidad, calculada por diferencia, fué del 67 y 47%, respectivamente para la paja tratada y la no sometida al álcali. Estos resultados son comparables a los obtenidos en otros numerosos ensayos (Fernández Carmona y Greenhalgh, 1972; Piatkowski y colaboradores, 1974a; Jayasuriya y Owen, -

1975; Greenhalgh y colaboradores, 1976; Garret y colaboradores, 1979).

Greenhalgh y colaboradores (1978b), ensayando en corderos dietas que contenían paja de cebada o ésta tratada con 6,6g de NaOH/100g de subproducto y un concentrado a partes iguales, encontraron un notable incremento en la ingesta de materia seca como consecuencia del tratamiento alcalino (102g frente a 88g/Kg P<sup>0.75</sup>); las digestibilidades de la materia seca, materia orgánica, FAD y energía eran respectivamente 67,3 y 66,5; 68,0 y 67,1; 53,6 y 48,8; 63,3 y 63,9%.

En relación con la digestibilidad de raciones que incluyen en su composición subproductos tratados con álcali, ofrecen especial interés los estudios realizados en corderos por Kategile y Frederiksen (1979), quienes con dietas que contenían un 67% de zuros de maíz tratados con distintos niveles de NaOH (2,5 - 10%) obtienen aumentos en la digestibilidad de la materia seca, materia orgánica, FND y fibra bruta cuando la intensidad del tratamiento no superaba los 5g de NaOH/100g de producto. Ensayando dietas en que el 61% eran zuros de maíz tratados con 0, 2,5, 5,0 ó 7,5g NaOH/100g de subproducto, la digestibilidad de la materia seca, materia orgánica, fibra bruta y energía fué mayor con los dos niveles superiores de álcali. Admitiendo que la digestibilidad del concentrado de la ración es constante, la digestibilidad de la materia seca y materia orgánica del zuro tratado aumentó en 5 - 10 unidades porcentuales.

Efecto del tiempo de reacción sobre la calidad del producto tratado.

Braman y Abe (1977), en ensayos con paja de trigo molida y tratada con niveles de álcali variables entre 0 y 16g/100g de materia seca, encontraron que al aumentar el tiempo de reacción desde 0 hasta 56 días se incrementó el contenido en FND, cenizas y FAD disminuyendo el de hemicelulosa. Igualmente, se detectó una interacción entre intensidad del tratamiento y tiempo de exposición al álcali, que afectaba a la digestibilidad "in vitro" de la materia orgánica.

Chandra y Jackson (1971) y Agrawal (1975) han observado que el hidróxido sódico residual presente en el material tratado reaccionaba lentamente, produciéndose con el tiempo un descenso en su contenido porcentual. Sin embargo, se ha visto que la digestibilidad "in vitro" no experimenta cambios en los primeros 20 días posteriores al tratamiento (Agrawal, 1975). Utilizando paja de cereales tratada al 4% de NaOH, Kellaway y colaboradores (1978) observan que la digestibilidad "in vitro", determinada a las 48 horas de la aplicación del álcali, aumenta en 14,7 unidades porcentuales respecto de la que presenta el material no tratado. El 50% de la reacción tiene lugar en la primera hora; el 68% en las doce primeras horas y el 83% en las primeras 24 horas.

Klopfenstein y colaboradores (1972) estudiaron la digestibilidad y el balance de nitrógeno de dietas - constituidas fundamentalmente por uno de los productos - siguientes: tallos de alfalfa, zuros, planta de maíz y

rastrojo de este cereal sometidos o no a tratamiento químico (4g NaOH/100g de materia seca). Estos subproductos, se suministraron a corderos después de 48 horas del tratamiento o tras su ensilado. El incremento en la digestibilidad provocado por el tratamiento alcalino variaba según el tipo de material y fué superior "in vitro" que -- "in vivo". El tratamiento químico afectó favorable y en algunos casos significativamente a la retención de nitrógeno, lo que indica que los carbohidratos en las raciones sometidas a la acción alcalina eran más fácilmente utilizables para la incorporación de  $\text{NH}_3$  y la formación de proteína microbiana.

Fernández y Gonzalez (1979) han observado con paja de cebada tratada con 4% de NaOH en solución pulverizada y con diferentes tiempos de actuación del álcali que el ensilado durante sesenta días favorece la acción de la base.

Wilkinson y Gonzalez Santillana (1978a) observaron como el pH de la paja de cebada tratada con soluciones de sosa pulverizadas descendía después de su ensilado durante 90 días. Con anterioridad Mowat (1971), tanto con paja de cebada como con rastrojo de maíz tratados con NaOH al 6%, obtuvo resultados análogos, ya que el pH descendía de 9-10 a 7-7,5. En esta misma línea se encuentran los resultados obtenidos por Flipot y colaboradores (1976). La neutralización puede deberse no sólo a la formación de ácidos orgánicos como consecuencia del ensilado, sino también a la liberación de grupos acetilo ligados a las cadenas de xilanos de la pared celular (Tarkow y Feist, 1969).

Wilkinson y Gonzalez Santillana (1978a) encuentran en el silo cierta actividad bacteriana que disminuye al aumentar las dosis de tratamiento y que se pone de manifiesto por la producción de ácidos grasos volátiles y de láctico.

Greenhalgh y colaboradores (1978b), con paja de cebada tratada con 6,6g de NaOH/100 g de material desecada al aire y ensilada durante un año, observan que el pH del producto disminuye ligeramente con el ensilado. - El estudio microbiológico revela que el número de bacterias aerobias mesofílicas es inferior ( $5 \times 10^5$  cuentas/g) en el producto tratado que en la paja de cebada adicionada con agua y ensilada ( $2,5 \times 10^8$  cuentas/g). Durante el ensilado aumentó el número de hongos, alcanzándose el -- contaje más alto en el producto tratado con agua ( $3 \times 10^8$  frente a  $3 \times 10^4$  cuentas/g). Resultados análogos obtienen Greenhalgh y colaboradores (1978a) con paja tratada con 8% de NaOH.

Shultz y colaboradores (1974) trataron paja de ballico con 4,5 g de NaOH y KOH a partes iguales aplicados en solución pulverizada y ensilaron el producto tratado con melazas y en algún caso con urea. El pH que, -- inicialmente era 11,6, después de cuatro días disminuyó hasta 6,9 estabilizándose en 4-5 a las dos ó tres semanas. Alguno de los ensilados contenía hasta un 13% de ácido -- butírico, expresado en materia seca. Cuando estas dietas se ofrecieron a corderos (Shultz y Ralston, 1974) las ingestas de materia seca y nitrógeno fueron superiores a -- las registradas con dietas que contenían el forraje no -- tratado. Así mismo, los coeficientes de digestibilidad -

de la materia seca, materia orgánica, FAD, LAD, FND y - proteína bruta fueron mayores en las dietas que contenían el forraje sometido a la acción del álcali. Análogos resultados obtuvieron Hotek y colaboradores (1974), quienes encontraron que el pH de paja tratada con álcali y ensilada bajo coronas de remolacha, de las cuales reciben -- el jugo, descendía desde 11,2 a 4-5. Wilkinson (1977) - mantuvo paja tratada con 5% de NaOH en recipientes herméticos obteniendo ensilados cuyo pH era de 8,9 y que contenían un 42,3% de materia seca y  $8 \times 10^8$  microorganismos viables.

Parece ser que si el ensilado puede mantener el pH inicial, su población microbiana permanece baja independiente de su contenido en agua. Alternativamente y puesto que ciertos microorganismos pueden crecer a pH elevados, en especial en materiales con un alto contenido en humedad suplementados con carbohidratos solubles - o en productos tratados con niveles moderados de álcali, el pH puede descender hasta 4-5. En estos casos se produce una intensa fermentación microbiana, puesta de manifiesto por la presencia de ácidos orgánicos. Parece - pues evidente la existencia de multitud de factores que pueden afectar a la calidad del producto final, entre - los que cabría destacar los siguientes: acción del álcali sobre los microorganismos, nivel de carbohidratos solubles, contenido en agua, grado de anaerobiosis, etc.

Wilkinson y Gonzalez Santillana (1978b) estudiaron en ganado vacuno de carne la ingesta y digestibilidad de dietas con paja de cebada tratada con 7,5% - de NaOH mediante solución pulverizada y posteriormente

ensilada durante 76 días y ensilado de ballico en las relaciones 33:66; 66:33 y 100:0, siendo los resultados relativos a ingesta voluntaria, digestibilidad y ganancia de peso similares para los dos tipos de producto tratado con álcali. Estos autores concluyeron que la conservación durante largo tiempo del producto tratado tiene poco efecto sobre la composición o el valor nutritivo del material sometido al tratamiento alcalino y que, aunque éste no puede reemplazar al ensilado de ballico de buena calidad, pueden no obstante obtenerse ganancias moderadas de peso si la proporción de paja tratada no alcanza en la dieta el 50% de su materia seca. Mowat (1971) obtuvo resultados análogos con dietas formadas por ensilado de maíz y paja de cebada adicionada con 6% de NaOH.

Oji y colaboradores (1976) ensayaron dietas que contenían rastrojo de maíz tratado con agua o con solución alcalina (2% NaOH + 2% Ca(OH)<sub>2</sub>) y ensilado durante treinta días junto con urea, minerales y vitaminas, observando que el tratamiento y ensilado elevan la ingesta de materia seca en un 50% y la digestibilidad de la energía en 6,4 unidades porcentuales. Por último, Greenhalgh y colaboradores (1978a) en ganado vacuno de carne encontraron que la ingesta y la digestibilidad de dietas formadas por paja de cebada tratada con 8% de NaOH eran superiores cuando el subproducto se ensiló tras la aplicación del álcali.

2.2.- Utilización digestiva de dietas adicionadas de nitrógeno no proteico, con particular referencia al biuret

El empleo de compuestos de NNP, por razones fundamentalmente económicas, se ha extendido desde que Hart y colaboradores (1939), Work y Henke (1940), Harris y -- Mitchell (1941a y b), entre otros autores, demostraron -- que la flora microbiana ruminal tenía capacidad para sin tetizar proteína microbiana a partir de compuestos nitro genados sencillos y que esa proteína podía ser utilizada e incorporada a los tejidos del hospedador.

Entre los compuestos de NNP ha sido la urea el que más frecuentemente se ha utilizado. Sin embargo, la baja eficiencia de utilización--en parte atribuible al -- desconocimiento de las necesidades nutritivas de la microflora ruminal-- alcanzada en dietas en las que este -- compuesto constituye la fuente de nitrógeno ha hecho -- que la investigación se extienda a otros productos nitro genados, entre los que se encuentra el biuret o carbamil-urea, que se obtiene industrialmente por síntesis de novo o pirolisis a partir de la urea y como subproducto en la síntesis de la misma. Su solubilidad en agua (2,1% a 39°C) es menor que la de la urea. Su hidrólisis, de la que resultan amoníaco y anhídrido carbónico, tiene lugar en el rumen y es más lenta que la de la urea, lo que permite evitar la acumulación de amoníaco en sangre. Por -- ello es posible utilizar con biuret niveles de suplemen tación elevados sin riesgos de toxicidad (Piva, 1964; -- Clark y colaboradores, 1963 y 1965).



En el rumen tanto la proteína como los compuestos de NNP en los que el nitrógeno se une a la molécula por enlaces covalentes (urea, biuret, ácido cianúrico, etc.) y no por enlaces iónicos que se disocian en agua (sales amónicas:  $SO_4(NH_4)_2$ ,  $ClNH_4$ ,  $PO_4H(NH_4)_2$ , etc.) han de hidrolizarse enzimáticamente a amoníaco, que será utilizado en la síntesis de aminoácidos. La hidrólisis del biuret requiere enzimas específicos o biuretasas (Jensen y Schroder, 1965; Nishihara y colaboradores, 1965; Bauriedel, 1970). Farlin y colaboradores (1968) y Schroder (1970) observaron que no existe tal actividad enzimática en los tejidos animales. Iwata y colaboradores (1961) tampoco la habían encontrado en el tracto digestivo de los animales monogástricos. Gilchrist y colaboradores (1968) y Schroder y Gilchrist (1969) observaron una ligera actividad biuretólítica en el rumen aunque no encontraron su origen. Posiblemente la presencia de biuret a bajo nivel (0,4%) en la urea comercial puede inducir el desarrollo de tal actividad (Bauriedel, 1970). Nishihara y colaboradores (1965) y Tiwari y colaboradores (1973a) encontraron que en el rumen la biuretasa descompone el biuret originando amoníaco, anhídrido carbónico y urea, que puede a su vez ser hidrolizada por la acción de la ureasa. La biuretasa se encuentra en las bacterias y no en los protozoos (Tiwari y colaboradores, 1973b).

Parece ser que la urea presente en el biuret de grado alimenticio es responsable del aumento del nivel de amoníaco y urea en el rumen y plasma que se observa en las primeras 3-4 horas tras la alimentación con dietas que lo contienen (Fonnesbeck y colaboradores, 1975).

Según Kondos (1975) existe amplia evidencia de que la hidrólisis del biuret en el rumen solo es posible tras un cierto período de adaptación de la microflora ruminal, cuya duración oscila entre unos cuantos días y varias semanas. En este período parece que el rumiante no utiliza eficientemente esta fuente de nitrógeno (Repp y colaboradores, 1955; Welch y colaboradores, 1957; Ewan y colaboradores, 1958; McLaren y colaboradores, 1959, 1960; Johnson y McClure, 1963; Campbell y colaboradores, 1963; Clark y colaboradores, 1963; Karr y colaboradores, 1965; Schaadt y colaboradores, 1966; Farlin y colaboradores, 1968a y b; Gilchrist y colaboradores, 1968; Oltjen y colaboradores, 1969; Schroder y Gilchrist, 1969; Clemens y Johnson, 1973a y b; Johnson y Clemens, 1973). Una vez que la adaptación al biuret es completa, éste constituye una fuente de NNP tan eficiente como la urea (Gaither y colaboradores, 1955; Meiske y colaboradores, 1955; McKenzie y Altona, 1964; Clark y colaboradores, 1965; Turner y Raleigh, 1969; Chicco y colaboradores, 1972; Templenton, 1972; Shultz y colaboradores, 1974a y b) o incluso superior a ella (Berry y colaboradores, 1956; Karr y colaboradores, 1965; Kondos y Mutch, 1975).

Schroder y Gilchrist (1969) observaron que el período necesario para alcanzar la máxima actividad biuretólica aumentaba al elevarse el contenido porcentual de proteína en la dieta. Los trabajos de Hatfield y colaboradores (1959), McLaren y colaboradores (1960) y Tiwari y colaboradores (1973b) parecen indicar que a medida que el biuret aporta mayor porcentaje de nitrógeno a la dieta, una cantidad más elevada del mismo escapa a la degradación ruminal y llega al tracto intestinal

posterior, donde se absorbe ingresando en la corriente sanguínea, para ser finalmente excretado a través de la orina. Tiwari y colaboradores (1973a) sugieren que el biuret podría formar un complejo con la proteína soluble del fluido ruminal, liberándose durante su digestión en el abomaso y tracto intestinal.

El amoníaco formado en el rumen y no utilizado por los microorganismos en la síntesis de proteína y ácidos nucleicos atraviesa la pared ruminal y llega por vía sanguínea al hígado, donde se transforma en urea, la cual puede ser reciclada directamente o a través de la saliva al rumen o bien ser excretada principalmente en la orina. La urea potencialmente excretable se retiene en los fluidos orgánicos en cantidades que están en relación inversa con la ingesta proteica del animal (Somers, 1961; Livingston y colaboradores, 1962). Cuando la cantidad de amoníaco que atraviesa el rumen supera la capacidad hepática de eliminación, se eleva su contenido en la sangre y tienen lugar fenómenos de toxicidad.

Hoy se sabe que en el rumiante la utilización global del nitrógeno dietético se afecta no solo por la eficiencia con que es usado en la síntesis de proteína microbiana ruminal, sino también por la calidad de este nutriente no degradado que alcanza al intestino, comparada con la de la proteína microbiana. Numerosos experimentos realizados en vacuno y ovino han permitido deducir que la calidad de la proteína dietética es relativamente de poca importancia a causa de la actividad de los microorganismos del rumen, que degradan y transforman en proteínas microbianas, posteriormente utilizadas por el animal.

mal, la mayor parte de la proteína de la ración. La metionina es el principal aminoácido limitante en esta proteína microbiana. Aunque la actividad microbiana mejora la composición aminoacídica de dietas que contienen proteína de baja calidad y/o NNP, también parece ser que puede actuar como barrera para la mejora de la calidad y cantidad de proteína utilizable por el rumiante.

En el rumen el nitrógeno amoniacal es el principal precursor de la proteína microbiana (Nolan y Leng, 1972), pero las necesidades de los microorganismos quedan cubiertas a una concentración de 5 mM que puede alcanzarse con un contenido proteico del 13% en la dieta (Satter y Roffler, 1973; Satter y Slyter, 1974). El amoníaco en exceso se absorbe en el rumen y se elimina vía orina bajo la forma de urea (Lewis y colaboradores, 1957). De acuerdo con Preston (1972) y Chalupa (1973), el NNP puede cubrir parte de los requerimientos de nitrógeno en dietas en las que el contenido en proteína sea inferior al 13%. Los resultados que Morgan y Behrens (1978) obtienen utilizando biuret como fuente de NNP en dietas con niveles de proteína no limitantes parecen confirmar la hipótesis de Preston y de Chalupa. La protección de la proteína verdadera frente a la degradación microbiana puede forzar a los microorganismos a utilizar el NNP con mayor eficacia. En este sentido parece ser que para que la utilización de nitrógeno amoniacal sea suficientemente eficaz y para evitar las pérdidas del mismo por absorción, el suministro energético que se deriva de la fermentación de la materia orgánica del alimento en el rumen debe ser tal que cubra la capacidad potencial de síntesis de la microflora ruminal (Oldham y colaboradores, 1977). Por tanto, la ve

locidad de fermentación de los alimentos puede afectar al suministro de proteína procedente del rumen, al alterarse la producción de energía. Así mismo, la naturaleza de los carbohidratos dietéticos puede ser importante para determinar la síntesis de proteína microbiana a partir de amoníaco en el rumen. Ørskov y colaboradores (1972) y Miller (1973), entre otros, han demostrado que la capacidad de síntesis proteica por la microflora ruminal depende ampliamente de la cantidad de sustrato fermentado. Este principio viene recogido en el sistema de valoración proteica propuesto por Burroughs y colaboradores (1975) y en el nuevo sistema propuesto por el Agricultural Research Council (Miller y colaboradores, 1977; Roy y colaboradores, 1977).

Cuando, por cualquier proceso, se aumenta la digestibilidad de subproductos o forrajes de baja calidad, se elevan las necesidades en nitrógeno de los microorganismos del rumen. Así, con paja sometida a tratamiento alcalino, Ørskov y Grubb (1978) obtenían aumentos significativos en la digestibilidad e ingesta voluntaria cuando eliminaron la deficiencia de nitrógeno creada al aumentar la degradabilidad del sustrato por adición de urea. En una serie de ensayos realizados en ovino al que se alimentó con dietas que contenían el 89% de zuros de maíz tratados con 5% de NaOH y el 9% de melazas, Kategile (1979) observó que la adición del 1 ó 1,5% de urea mejoraba la digestibilidad de la materia seca, materia orgánica y FND. El aumento fué de 29,1 unidades porcentuales, frente a las 12 de Campling y colaboradores (1962); 10 de Moir y Harris (1962) y Winter y Pigden (1971); 11 de Raleigh y

Wallace (1963); 4,8 de Donefer (1968); 3 de Donefer y colaboradores (1969).

En novillas, Rahal y Naik (1976) observaron -- que la suplementación con urea-melazas de paja de cereal sometida a tratamiento alcalino aumentó la digestibilidad de la sustancia orgánica del 44 al 61%. Por el contrario, Braman y Abe (1977) observaron que la incorporación de urea (0, 1 ó 2%) a raciones que contenían un 50% de paja de trigo tratada con álcali al 2 ó 4% disminuyó la ingesta y la retención porcentual de nitrógeno.

Fonnesbeck y colaboradores (1975) señalan que la utilización de NNP se afecta por tres factores: a) cantidad y calidad de la proteína de la dieta; b) nivel y naturaleza de los carbohidratos dietéticos y c) toxicidad específica del producto a utilizar. Cuando se emplean compuestos que liberan amoníaco con rapidez (urea, sales amónicas, etc.) la dieta ha de contener gran cantidad de carbohidratos disponibles. Aquellas fuentes de NNP que se hidrolizan más lentamente pueden emplearse con alimentos cuyo contenido en carbohidratos de la pared celular es mayor. A este respecto, ya anteriormente Pigden y Heaney (1969) habían sugerido la conveniencia de suplementar los subproductos fibrosos con 5-10% de carbohidratos fácilmente utilizables.

Las melazas se han venido utilizando en la alimentación del ganado ovino y vacuno como fuente de energía y también, en muchos casos, para mejorar la palatabilidad de forrajes o subproductos de baja calidad. Sus carbohidratos son fácilmente metabolizados a ácidos gra-

Los volátiles por los microorganismos del rumen por lo que, en presencia de NNP, constituyen un soporte adecuado para la formación de aminoácidos. Según Gihad (1979), la suplementación con melazas-urea podría superar en algunos casos el efecto derivado de la utilización de torta de soja, tanto en lo que se refiere a la ingesta como a la digestibilidad de la dieta y a la retención de nitrógeno. Templeton y colaboradores (1970) habían comparado suplementos líquidos constituidos por biuret de grado alimenticio y melazas, urea y melazas o sólo melazas en ganado vacuno y ovino que consumían heno de gramíneas de bajo contenido proteico, observando que el crecimiento era más rápido en los animales que recibieron biuret-melazas.

De acuerdo con Oltjen (1972) parece que la clave para la utilización óptima del biuret de grado alimenticio está en la sincronización entre la disponibilidad de amoníaco y de carbohidratos solubles para los microorganismos del rumen.

El nivel de minerales, la presencia de vitaminas, el pH ruminal, etc. son factores que también pueden afectar a la eficacia de utilización del NNP. Así, Garrigus (1970), en su trabajo de revisión acerca de las necesidades de azufre en dietas para rumiantes, indica que aquellas están relacionadas con la cantidad de nitrógeno utilizado en la formación de proteína. La relación N:S es adecuada en la mayoría de los alimentos; no obstante, si se utiliza una fuente de NNP se hace necesario el suministro de azufre adicional. La relación óptima N:S estaría próxima a 10:1 (NAS, 1971).

Uno de los factores que afectan al valor nutritivo de los forrajes es su aceptación por el animal, es decir, su ingesta voluntaria (Raymond, 1969). La drástica reducción que se opera en el consumo de un forraje -- cuando su digestibilidad desciende a valores mínimos, -- no puede explicarse solo en relación con los mecanismos físicos de regulación, sino también en base al status nutritivo del animal y de su población microbiana ruminal, cuyo crecimiento y actividad dependen de un suministro apropiado de nutrientes. De aquí que un aporte insuficiente de nitrógeno para el mantenimiento de una población microbiana funcional en el rumen sea el factor limitante de mayor importancia en la utilización digestiva de los materiales ricos en lignocelulosa (Moir y Harris, 1962; Egan, 1965). Los efectos de la falta de nitrógeno en la dieta pueden presentarse con cierta dilación, puesto que el reciclado de la urea de la saliva y la difusión de nitrógeno a través del epitelio ruminal desempeñan un papel importante en la economía del rumiante.

Parece ser que, dependiendo del tipo de forraje, contenidos en proteína bruta inferiores al 4-8,5% determinan reducciones importantes en la ingesta (Glover y Dougall, 1960; Moir y Harris, 1962; Blaxter y Wilson, 1963; Elliot y Topps, 1963; Minson, 1967), que conducen a una deficiencia tanto proteica como energética. Este efecto puede corregirse con una suplementación adecuada de NNP. En este sentido son numerosos los estudios que muestran la eficacia de la urea y del biuret como aportes nitrogenados suplementarios en dietas constituidas por forrajes o subproductos ricos en lignocelulosa y deficientes en --



proteína (Kreft, 1963; McKenzie y Altona, 1964; Karr y colaboradores, 1965; Hull y colaboradores, 1971; Fick y colaboradores, 1973). La suplementación mejora no solo la ingesta sino también la digestibilidad de esas dietas que, por otra parte, sólo son adecuadas para cubrir las necesidades de mantenimiento o bien para alcanzar niveles moderados de crecimiento. En este caso, el empleo de NNP como sustitutivo parcial de proteína verdadera tiene una base fundamentalmente económica; el biuret presenta una cierta ventaja sobre la urea ya que ésta puede limitar la ingesta y, de otro lado, cuando se emplea a niveles elevados puede provocar fenómenos de toxicidad (van Horn y colaboradores, 1967; Huber y Cook, 1969).

Los estudios de McKenzie y Altona (1964); -- Raleigh y Turner (1968); Thomas y Armitage (1972); -- Tollet y colaboradores (1969); Clanton (1970) y Templeton y colaboradores (1970) demuestran que la aceptación de dietas con biuret es superior a la que se presenta en las dietas que contienen urea. Ammerman y colaboradores (1972), observaron que el biuret es tan efectivo como la harina de algodón para aumentar, en corderos, la ingesta voluntaria de heno con bajo contenido en nitrógeno. Sin embargo, Fonnesbeck y colaboradores (1971) encontraron - en ganado vacuno que el consumo voluntario de suplementos que contenían un 40% de biuret de grado alimenticio no bastaba para cubrir la deficiencia en nitrógeno de la fracción de forraje de la dieta. Por el contrario, los suplementos que contenían menos del 30% de este biuret - eran consumidos en exceso. En el primer caso, el suplemento podía contener un 6% de urea y dado que Clanton (1970)

había observado que el ganado vacuno rehusaba consumir suplementos con tal nivel de urea, cabe pensar que la proporción en que ésta aparece en el biuret de grado alimenticio limitaría la cantidad de suplemento que puede ingerir el animal.

### 2.3.- Naturaleza química y degradación microbiana de los componentes de la pared celular

De los tres factores que definen el valor nutritivo de un forraje, ingesta, digestibilidad y eficiencia de utilización de los nutrientes absorbidos (Raymond, 1969), es el segundo el que presenta mayor relevancia; de aquí el interés creciente que tradicionalmente ha existido hacia su estimación mediante técnicas de laboratorio. Hasta el año 1963 en que Van Soest introduce el uso de detergentes, el sistema de análisis Weende domina el campo de la valoración nutritiva, lo que se ha visto favorecido por la falta de conocimientos acerca de la naturaleza química de los componentes vegetales y particularmente de su pared celular.

El concepto básico del método Weende según el cual la solubilidad de un nutriente determina su disponibilidad y la fracción fibrosa representa la parte indigestible es más aplicable a los animales monogástricos que a los ruminantes, cuya capacidad de fermentación gastrointestinal hace posible la hidrólisis de los enlaces  $\beta$ -glucosídicos de la celulosa.

Por otro lado, la determinación de la fibra bruta presenta, desde el punto de vista estrictamente analí-

tico, varios puntos débiles: la alta solubilidad de la lignina y hemicelulosa a pH extremos hace que, por término medio, un 80% de las hemicelulosas o pentosanas y un 50-90% de la lignina se eliminen en la extracción secuencial ácida y alcalina, contabilizándose en la fracción de M.E. L.N. como carbohidratos disponibles, en tanto que sólo un 50-80% de la celulosa aparece en el residuo. Por esta razón la digestibilidad de la fracción fibra bruta en los forrajes de baja calidad y subproductos de carácter fibroso supera a la de las M.E.L.N., que teóricamente están formadas por carbohidratos solubles (Van Soest y McQueen, - 1973).

La fibra bruta de un vegetal está contenida en su pared celular e incluye celulosa, hemicelulosa y lignina, como componentes mayoritarios. Las dos primeras fracciones son degradables por enzimas bacterianas, capaces de hidrolizar sus enlaces  $\beta$ -glucosídicos. Por el contrario, los carbohidratos no estructurales forman parte del contenido celular y son totalmente degradables por las enzimas de los animales superiores. De acuerdo con ello Van Soest divide al material vegetal en dos fracciones: a) contenidos celulares, solubles en detergente neutro y formados por lípidos, carbohidratos no estructurales, pectinas, la mayor parte de la proteína y otros materiales solubles (ácidos orgánicos, ácidos nucleicos, la mayoría de los constituyentes inorgánicos, etc.) y b) pared celular, insoluble en detergente neutro y constituida fundamentalmente por hemicelulosas (que se separan por tratamiento con detergente en medio ácido), celulosa, lignina y cutina; rara vez contiene más de un 2% de cen-

zas y sólo trazas de nitrógeno, a menos que la proteína se haya desnaturalizado o combinado con azúcares -lo que puede suceder por calentamiento- o se combine irreversiblemente con taninos (Osbourn, 1978). Las sustancias que componen la primera fracción son totalmente digestibles, aunque su digestibilidad aparece como incompleta debido a la excrección de productos metabólicos endógenos y de origen bacteriano. La digestibilidad de la pared celular es variable en función de su grado de lignificación (más avanzado con el grado de madurez de la planta), estructura física, grado de cristalización u ordenación de la celulosa, enlaces con la lignina y, más infrecuentemente con sílice, y asimismo del grado de acetilación en las hemicelulosas.

A pesar de la mayor solidez conceptual de este sistema analítico, las desviaciones obtenidas con su aplicación práctica superan en algunos casos a las derivadas de la utilización del sistema Weende. Muy probablemente ello es consecuencia de que los métodos químicos no permiten apreciar la distribución física y organización de los diferentes componentes de la planta siendo éstos, sin embargo, los factores que más estrechamente parecen determinar la disponibilidad del sustrato vegetal al ataque microbiano. Por otra parte, se ha demostrado la presencia de hemicelulosas y sustancias pécticas en la FAD en concentraciones variables entre el 10 y 20% de la fracción, sin que ésta contenga toda la lignina del material original.

Los problemas asociados con la digestión ruminal de la pared celular se simplificarían si su estructura química fuese conocida con detalle. Aunque puede de-

terminarse su composición global en azúcares, se desconoce la naturaleza de las uniones existentes entre componentes y el modo en que otros constituyentes de menor importancia cuantitativa se incrustan en ella (Bacon, 1979).

Sobre el crecimiento de la pared celular existen varias teorías, aunque la tendencia actual es a considerar que dicho crecimiento se realiza en parte por intuscepción, mientras que el sistema fibrilar de la celulosa crece por aposición.

Las propiedades físicas de las paredes celulares vienen afectadas por las proporciones en que aparecen la lignina, hemicelulosas y celulosa. La celulosa está constituida por largas cadenas de moléculas de glucosa unidas por enlaces  $\beta$  1-4; entre dichas cadenas se establecen puentes de hidrógeno, formándose fibrillas que se disponen dejando entre ellas espacios que pueden estar rellenos por hemicelulosas, suberina, cutina, lignina, sílice, etc. Las hemicelulosas son polisacáridos más o menos ramificados de xilosa, arabinosa, ácido glucurónico, galactosa, manosa y en los que a veces están presentes otros azúcares; su estructura molecular resulta de la unión de cadenas lineales de  $\beta$  1-4 xilano con gran cantidad de restos arabinofuranosil, 4-o-metilglucuronil, acetilo, cinamil y presenta numerosas uniones con la lignina.

Las pectinas, muy próximas químicamente a las hemicelulosas, contienen principalmente ácido galacturónico, arabinosa y galactosa. La lignina es el principal material incrustante de la pared celular; es insoluble, de carácter aromático, alto peso molecular y procede de

la deshidrogenación enzimática y subsiguiente polimerización de derivados fenilpropano. Los ácidos ferúlico y p-cumárico se encuentran entre los productos de degradación de la lignina y pueden actuar como elementos de unión entre ella y los carbohidratos, dado que poseen dos grupos funcionales importantes, hidroxilo y carboxilo (Hartley y Jones, 1978).

Las hemicelulosas forman parte de la matriz de la pared celular; el carácter fibroso de ésta deriva de la cristalización o grado de ordenación de las largas cadenas que constituyen la celulosa, la cual en la mayoría de los vegetales no presenta un carácter marcadamente fibroso. Así, la existencia de celulosa relativamente pura, como sucede en el algodón, es una excepción biológica (Van Soest y McQueen, 1973). La lignina confiere a la pared celular su carácter rígido.

El grado de ordenación de la celulosa, mayor en las pajas y subproductos fibrosos que en los forrajes de buena calidad, es un factor importante que limita su degradación microbiana. El efecto inhibitorio de la lignina sobre la degradabilidad de la pared celular podría explicarse en base a dos factores: primero, impide el acceso de los microorganismos celulolíticos a las cadenas de polímeros que constituyen su sustrato natural, y segundo, presenta uniones con dichos polímeros en puntos específicos (Bacon, 1979).

La aparente digestibilidad parcial de la lignina, que algunos investigadores han encontrado (Allison y Osbourn, 1970; Minson, 1971; Grant y colaboradores, 1974;

Gaillard y Richards, 1975; Fahey y colaboradores, 1979), puede deberse a la formación de complejos lignina-carbohidrato por la acción de la flora microbiana ruminal sobre el forraje, que atraviesan el rumen y posiblemente el intestino como polímeros en solución y que no aparecen en el residuo fibroso de las heces (Gaillard y Richards, 1975). La digestibilidad de la fracción LAD, según encuentran Allison y Osbourn (1970), oscila para una amplia gama de leguminosas y gramíneas entre 28,3 y -75,8%. Fahey y colaboradores (1979) con distintos forrajes de baja calidad (zuros de maíz, paja de trigo, bagazo de caña de azúcar, etc.) obtienen para la digestibilidad de esta fracción coeficientes que oscilan entre 27,6 y -26,4%. La LAD del bagazo presenta una digestibilidad del 19,9%. Es claro, pues, que el uso de la lignina como indicador inerte en estudios de digestibilidad está sujeto a graves limitaciones. No se ha explicado suficientemente la digestibilidad negativa de la LAD.

En algún caso se ha observado la formación post ruminal de artefactos de lignina o lignina artificial de naturaleza fenólica. La degradación de la lignina conduciría a la formación de monómeros fenólicos que podrían polimerizarse en las condiciones ácidas existentes en varias regiones del tracto digestivo de los rumiantes, dando lugar a compuestos insolubles que se comportarían como la lignina. Fahey y colaboradores (1979) indican a este respecto que el bagazo de caña de azúcar tiene gran cantidad de compuestos fenólicos, comparado con otros materiales fibrosos, que pueden ser causa de la formación de artefactos de lignina.

La formación de estos compuestos en el tracto -

post-ruminal puede conducir a resultados de FAD superiores a los de FND en la excrección fecal, obteniéndose coeficientes de digestibilidad para las hemicelulosas que superan la cifra del 100% (Rexen y Thomsen, 1976).

Actualmente se cree (Bacon, 1979) que la digestión de la pared celular del vegetal es controlada por los componentes de la matriz, particularmente por la fracción de hemicelulosas. Las pectinas son solo un constituyente de menor entidad en las paredes celulares de las monocotiledóneas, por lo que las enzimas que las degradan -bastantes frecuentes en las bacterias- participan sólo ligeramente en la digestión de las gramíneas y cereales.

El tipo de enlace covalente que predomina en la pared celular de la planta es o-glucosídico y puede ser -hidrolizado en el medio ligeramente ácido que se origina en la digestión gástrica. Así, la mayor parte de la arabinosa que aparece bajo la forma de furanosa en las hemicelulosas puede separarse en estas condiciones. Los enlaces de la celulosa son más resistentes.

Así mismo se observan en la pared celular uniones entre grupos alcoholes primarios o secundarios, restos acetilo de ácidos pectínicos y de hemicelulosas y también ésteres fenólicos en estas últimas. Los ácidos urónicos de pectinas y lignina pueden aparecer esterificados -con metanol. En las gramíneas los grupos acetilo están -fundamentalmente ligados a las hemicelulosas y dificultan la degradación microbiana de la pared celular. El efecto favorable de las soluciones concentradas de álcali sobre la digestibilidad de la pared celular reside en la liberación



ción de estos grupos y en la rotura de puentes de hidrógeno entre moléculas de polisacáridos adyacentes y, en menor grado, en la hidrólisis de enlaces covalentes. Este efecto es distinto del de separación de restos de la estructura de la pared celular (Bacon 1979).



### 3.- MATERIAL Y METODOS

### 3.- MATERIAL Y METODOS

#### 3.1.- Diseño experimental

La investigación recogida en esta Memoria de Tesis Doctoral deriva de una serie amplia de ensayos agrupados en tres experimentos:

Experimento A.- Comprende un estudio químico-bromatológico del bagazo de caña de azúcar sometido a tratamiento alcalino con soluciones de hidróxido sódico en la relación 1:1, de concentraciones crecientes entre 0 y 6%, y -- posteriormente ensilado durante un período no inferior a 90 días. Las concentraciones teóricas de hidróxido sódico ensayadas fueron de 0,2,4 y 6g de NaOH/100g de bagazo de contenido en materia seca no inferior al 75%.

Así mismo se trata de cuantificar en este experimento las alteraciones producidas en la composición química del bagazo y la estabilidad, juzgada desde el punto de vista microbiológico, del producto obtenido.

Experimento B.- Incluye dos series de ensayos cuyo objetivo es determinar, por incubación con microorganismos, la disponibilidad de los nutrientes del bagazo de caña de azúcar sometido a los tratamientos que se especifican en el experimento A, siguiendo bien el procedimiento de digestibilidad "in vitro" de Tilley-Terry (1963), bien la técnica de la "bolsa de nylon" introducida en el rumen de animales fistulados, descrita por Hopson y colaboradores (1963). Se pretende evaluar la precisión de estas técnicas como métodos de laboratorio para la estimación de la

digestibilidad del bagazo de caña de azúcar sometido a -  
tratamiento alcalino.

Experimento C..- Se trata de conocer la utilización -  
digestiva y metabólica de dietas en las que el bagazo de  
caña de azúcar tratado con álcali y ensilado constituye  
el soporte energético de la ración. Como fuente suplemen-  
ria de nitrógeno se emplea biuret, cuya eficiencia de --  
utilización se estudia comparativamente frente a la de -  
una proteína de buena calidad, como es la que proporciona  
la torta de soja. La adición de biuret o torta de soja -  
se lleva a cabo en cantidades tales que los niveles de -  
nitrógeno en las dietas correspondan teóricamente al 1,65  
y 2,10%, equivalentes al 10,3 y 13,1% de proteína bruta  
(Niveles 1 y 2 respectivamente). Son, así mismo, objeto  
de investigación los efectos del nivel de nitrógeno en la  
dieta y su calidad sobre la utilización digestiva del -  
bagazo.

Con estos objetivos se lleva a cabo una serie  
de ensayos siguiendo un diseño factorial  $4 \times 2 \times 2$ , que  
comprende un total de 16 experiencias de digestibilidad  
y balance, con seis animales experimentales por trata-  
miento y según el esquema siguiente:

(ver página 52)

Finalmente, se realiza un ensayo para estimar  
la ingesta voluntaria de las dietas que contienen los ni  
veles superiores de biuret y de soja. Esta prueba se lle  
va a cabo con grupos de 5 animales.

Intensidad del tratamiento alcalino (g NaOH/100g bagazo) <sup>(1)</sup>	<u>Fuente de nitrógeno</u>		Nivel de nitrógeno (g N/100g dieta MS)	Ensayo
	<u>Biuret</u>	<u>Torta de soja</u>		
0	B	-	1,65	0B <sub>1</sub>
0	B	-	2,10	0B <sub>2</sub>
0	-	S	1,65	0S <sub>1</sub>
0	-	S	2,10	0S <sub>2</sub>
2	B	-	1,65	2B <sub>1</sub>
2	B	-	2,10	2B <sub>2</sub>
2	-	S	1,65	2S <sub>1</sub>
2	-	S	2,10	2S <sub>2</sub>
4	B	-	1,65	4B <sub>1</sub>
4	B	-	2,10	4B <sub>2</sub>
4	-	S	1,65	4S <sub>1</sub>
4	-	S	2,10	4S <sub>2</sub>
6	B	-	1,65	6B <sub>1</sub>
6	B	-	2,10	6B <sub>2</sub>
6	-	S	1,65	6S <sub>1</sub>
6	-	S	2,10	6S <sub>2</sub>

(1) MS > 75%

### 3.2.- Adecuación del bagazo y preparación de las dietas experimentales

El bagazo utilizado en estos ensayos, alrededor de 6000 Kg, procede de la campaña de 1979 de la azucarrera Nuestra Señora del Rosario (Salobreña). Su composición inicial media, determinada en una serie de alícuotas tomadas de diferentes puntos, figura en la Tabla I.

Dado su alto porcentaje de agua, el bagazo se deseca a temperatura ambiente extendido sobre suelo de ce

mento durante el tiempo suficiente para que su contenido en materia seca no sea inferior al 75%. Este bagazo parcialmente desecado constituye la materia prima sobre la que se aplican los distintos tratamientos alcalinos. Con tal objeto, lotes de 25 Kg de bagazo, extendidos sobre una lámina de polietileno de 6 x 5 metros formando una capa suficientemente delgada, se tratan por pulverización con 25 litros de solución de hidróxido sódico al 0, 2, 4 y 6%, según los casos, con la ayuda de un equipo Solo-Port dotado de una tobera atomizadora y cuya capacidad máxima es de 2,5 l/min. Durante el proceso de pulverización y con el fin de conseguir la máxima homogeneidad en los tratamientos, el bagazo se voltea y extiende repetidas veces. Finalizada esta operación, se procede a su ensilado utilizándose para cada uno de los tratamientos dos silos de una batería de silos torre tipo Aberdeen de 3 metros cúbicos de capacidad. Simultáneamente se lleva a cabo la recogida de alícuotas que se conservan a temperatura ambiente en bolsas de plástico colocadas en recipientes herméticos.

Transcurridos 90 días de ensilado, se toman alícuotas de cada uno de los silos y se conservan a -20°C hasta proceder a su análisis y adecuación como sustratos a utilizar en los ensayos de digestibilidad "in vitro" (Tilley-Terry, 1963) y de digestibilidad "en bolsa de nylon" (Hopson y colaboradores, 1963).

En el experimento C el bagazo sometido a los distintos tratamientos alcalinos y ensilado durante al menos 90 días se utiliza como ingrediente base de dietas para ganado ovino. Dichas dietas se preparan en el momento de ser ofrecidas a los animales, incorporándoseles melazas de remolacha, con el fin de mejorar su palatabilidad, biuret o torta de soja, como fuentes de nitrógeno y un -

suplemento minero-vitamínico adecuado, según el siguiente esquema:

Ingredientes <sup>(1)</sup> (g/Kg dieta)	Dietas			
	<u>B<sub>1</sub></u>	<u>B<sub>2</sub></u>	<u>S<sub>1</sub></u>	<u>S<sub>2</sub></u>
Bagazo tratado y ensilado	650	650	650	650
Melazas de remolacha	125	125	125	125
Biuret purificado	25	35	-	-
Torta de soja (8% N)	-	-	125	175
Almidón de trigo	150	140	57	7
Fosfato bicálcico ( $\text{PO}_4\text{HCa}_2\text{H}_2\text{O}$ )	15	15	15	15
Fosfato tricálcico ( $(\text{PO}_4)_2\text{Ca}_3$ )	12	12	12	12
Fosfato monocálcico ( $(\text{PO}_4\text{H}_2)_2\text{CaH}_2\text{O}$ )	3	3	-	-
Sulfato magnésico $\text{SO}_4\text{Mg } 7\text{H}_2\text{O}$	14	14	10	10
Carbonato magnésico básico (24% Mg)	4	4	4	4
Corrector vitamínico-mineral <sup>(2)</sup>	2	2	2	2

(1) Datos expresados en sustancia original excepto para el bagazo que se expresa en materia seca.

(2) Un Kg suministra: vitamina A, 5.000.000 U; vitamina D<sub>3</sub>, 1.600.000 U; vitamina B<sub>2</sub>, 4 g; Co, 0,2 g; I, 0,75 g; Cu, 1,2 g; Zn, 21 g; Mn, 30 g; Fe, 42 g.

El almidón se incorpora con objeto de obtener dietas isocalóricas.

El biuret utilizado en la elaboración de las dietas experimentales, se prepara a partir de biuret comercial (Biuremix) cedido por Unión Explosivos Rio Tinto S.A., cuya composición analítica es la siguiente: biuret, 36,5%; urea, 53,5%; triuret, 3,0%; ácido cianúrico, 4,0%; N total, 43,67%; materia seca, 98,0%. Este biuret comercial se somete a un proceso de enriquecimiento o purificación basado en la menor solubilidad en agua que, comparativamente frente a la urea, presenta el biuret. Con este objeto, se

incorpora al producto comercial agua en la relación 1:2, manteniéndose en agitador de volteo durante 2 horas. Estudios previos indican que los tiempos de agitación superiores a dos horas no conducen a una mejora apreciable del nivel de enriquecimiento, como puede apreciarse en la Gráfica 1. Transcurrido el tiempo de agitación, el producto se filtra y deseca en estufa de aire forzado a 70°C durante 24 horas. Finalmente se tritura en molino de martillos hasta obtener polvo fino. El rendimiento del proceso de purificación seguido es del 40%.

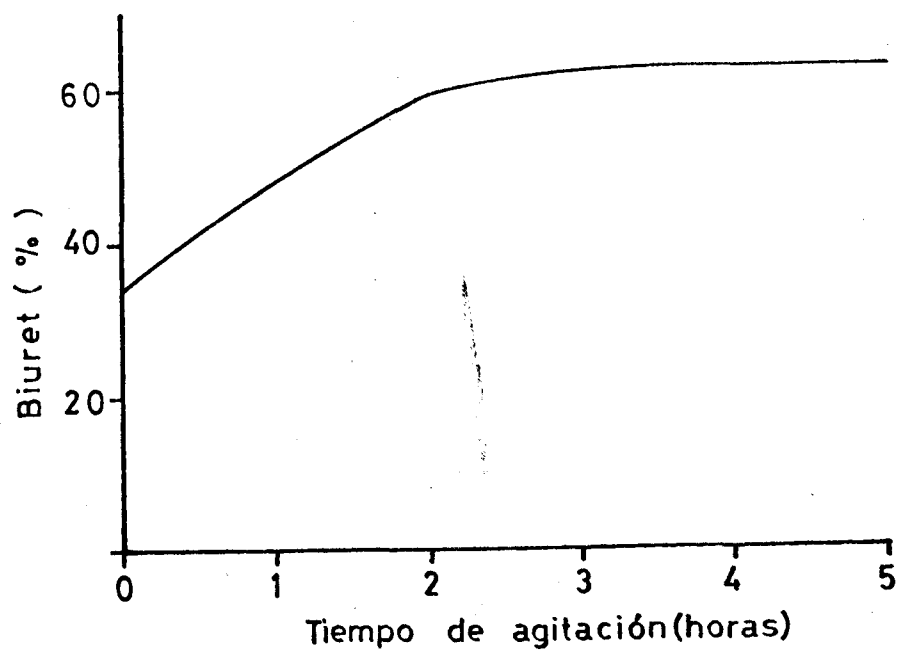
### 3.3.- Metodología

a) Experimento A.- Las distintas etapas o fases correspondientes al experimento A aparecen descritas en los epígrafes 3.2 y 3.4.

b) Experimento B.- Los ensayos que comprende se llevan a cabo en corderos de raza Segureña dotados de fístula ruminal, realizándose la necesaria operación quirúrgica cuando los animales tienen 12 meses de edad.

Durante las dos o tres semanas anteriores a la operación se suministra a los corderos una dieta a base de heno de alfalfa de buena calidad y maíz, ofrecida a nivel ligeramente superior al de mantenimiento. El acceso al agua es libre en todo momento. La dieta y el agua se retiran respectivamente 36 y 16 horas antes de la intervención quirúrgica. La anestesia se realiza por inyección intravenosa de 25 mg de pentobarbital sódico por Kg de peso vivo. Como anestesia de inducción, se administran previamente 1,5 g de benzodiazepina. Este procedimiento es suficiente para llevar a cabo la implantación de la cánula ruminal. A tal efecto se realiza una laparatomía oblicua izquierda según la técnica de Brown y colaborado





Gráfica 1. Efecto del tiempo de agitación sobre el contenido en biuret del biuret comercial.

res (1968), seccionando sucesivamente piel, planos musculares y peritoneo, hasta alcanzar la cavidad abdominal; a continuación se localiza el saco dorsal del rumen en el que se practica una incisión en forma de cruz, colocándose la cánula ruminal de teflón (ver diagrama).

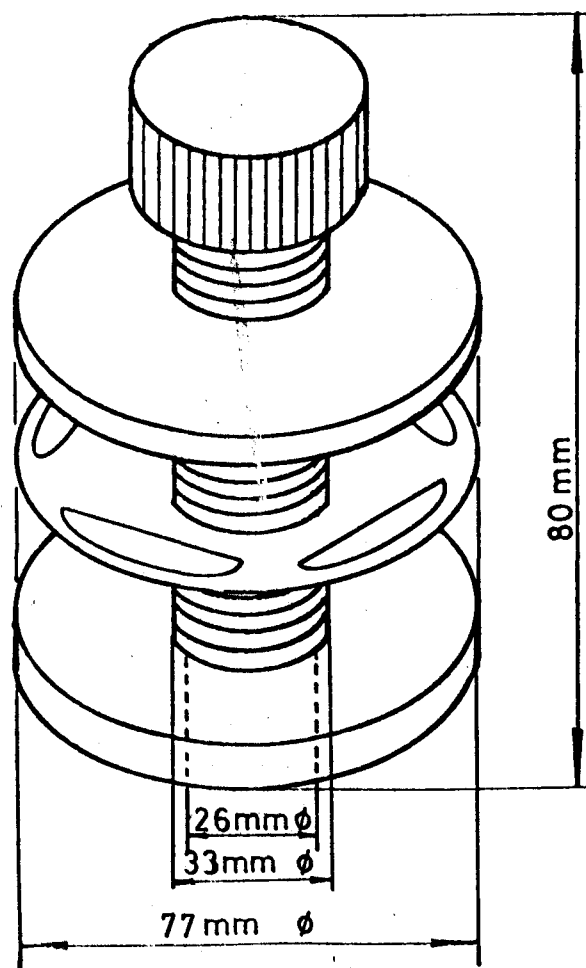
La incisión se cierra cuidando de que contacten mucosa con mucosa para, así, favorecer la fistulización (Ash, 1957). Una arandela especial (ver diagrama) fijada a la serosa de la pared ruminal mediante cuatro puntos de sutura, asegura un período prolongado de utilización de la cánula. La porción distal de ésta se aflora al exterior perforando nuevamente peritoneo, planos musculares y piel, fijándose mediante una arandela roscada. Un tapón, igualmente roscado, cierra la abertura de dicha cánula.

El período postoperatorio se prolonga durante dos meses, permaneciendo los animales en jaulas individuales. Transcurridas 24 horas de la operación, se les empieza a suministrar alimento, atendiéndose en los primeros días especialmente a la limpieza con suero fisiológico de la región intervenida así como al tratamiento con antibióticos.

Transcurridos tres meses después de la implantación de la cánula se utilizan estos animales para llevar a cabo los ensayos de digestibilidad "in vitro" y "en bolsa de nylon". A tal efecto, se colocan en células de metabolismo individuales y se les suministra alfalfa de buena calidad en la cantidad adecuada para cubrir sus necesidades de mantenimiento.

Tras un período de adaptación a la dieta de 3 semanas de duración, se inician los ensayos.

Cánula ruminal



Determinación de la digestibilidad "in vitro".

Se ha seguido la técnica descrita por Tilley-Terry (1963), realizándose las determinaciones sobre muestras desecadas y molidas del bagazo de caña de azúcar sometido a los distintos tratamientos alcalinos y ensilado. Este método de determinación en el laboratorio de la digestibilidad de la materia seca y de la materia orgánica comprende dos etapas: en la primera, la muestra es digerida en condiciones anaerobias por microorganismos del rumen a 38°C en la oscuridad. Se utiliza solución buffer - que permite mantener el pH entre los límites adecuados para el normal desarrollo del proceso digestivo, así como la obtención de concentraciones de AGV que no excedan a las que se registran en el animal. La solución buffer se prepara de acuerdo con la fórmula dada por McDougall - (1948) para la saliva artificial:

$\text{CO}_3\text{HNa}$ .....	9,8g /1
$\text{PO}_4\text{HNa}_2$ 12 $\text{H}_2\text{O}$ .....	9,3g /1
$\text{ClNa}$ .....	0,47g/1
$\text{ClK}$ .....	0,57g/1
$\text{Cl}_2\text{Mg}$ anhidro .....	0,06g/1
$\text{Cl}_2\text{Ca}$ .....	0,04g/1
pH = 8,23	

Una vez preparada, se satura con  $\text{CO}_2$  hasta que quede totalmente incolora y se conserva a 38°C.

El líquido ruminal previamente filtrado suministra el inóculo de microorganismos. La segunda etapa - tiene por objeto simular la fase de digestión gástrica en la que se lleva a cabo la hidrólisis de la proteína no digerida durante la etapa anterior, estableciéndose así

un paralelismo con el proceso de digestión "in vivo". Muestras representativas - 0,5 g - del bagazo, previamente desecado y molido como se indica en el apartado de técnicas analíticas, se colocan por duplicado en tubos de centrífuga de 80-90 ml de capacidad, adicionándose a cada uno de ellos 40 ml de solución buffer y 10 ml de líquido ruminal filtrado.

Como proceso alternativo puede prepararse cantidad suficiente de mezcla de líquido ruminal y solución buffer en la proporción 1:4 para el conjunto de muestras a analizar, manteniéndose en condiciones anaerobias.

Sobre el espacio libre de los tubos de centrífuga se deja pasar una corriente de  $\text{CO}_2$ , cerrándose los tubos con tapones de caucho provistos de una válvula Bunsen, que se abre unicamente para dar salida a los gases producidos como consecuencia de la fermentación que tiene lugar en el interior de los tubos. Finalmente, las muestras se incuban a  $38^\circ\text{C}$  en la oscuridad durante 48 horas, agitándose cada 4-5 horas.

Transcurrido el período anterior, la actividad bacteriana se detiene por adición de 1 ml de  $\text{Cl}_2\text{H}_g$  al 5%. Para favorecer la sedimentación, se añaden 2 ml de solución de  $\text{CO}_3\text{Na}_2$  1N, centrifugándose a continuación a 1800g durante 15 minutos. Se elimina el sobrenadante y el residuo se trata con 50 ml de solución de pepsina en medio clorhídrico, que se prepara disolviendo 2 g de pepsina 1:10.000 en 850 ml de agua desmineralizada y 100 ml de  $\text{ClH}$  1N, llevándose hasta 1 litro. Tras la adición de la solución de pepsina, las muestras se mantienen en estufa a  $38^\circ\text{C}$  durante 48 horas. Concluido este período se vuelve --

a centrifugar y una vez eliminado el sobrenadante, se lava el residuo repetidas veces con agua, utilizándose para ello crisoles con placa filtrante de porosidad 2. El contenido se deseca en estufa a  $103 \pm 1^{\circ}\text{C}$  y se pesa. Finalmente se determinan cenizas por calcinación a  $550^{\circ}\text{C}$ .

Paralelamente a todo el proceso se realizan blancos con el fin de determinar partículas de alimento no digeridas y microorganismos procedentes del líquido ruminal. Deducido el valor medio de estos blancos, se determina la digestibilidad "in vitro" de la materia seca y orgánica de los problemas como peso del material digerido por 100 g de materia seca y orgánica.

El líquido ruminal empleado se obtiene de uno de los animales dotado de fistula ruminal permanente y adaptado a la dieta de heno de alfalfa, como ya se indica anteriormente. Con este fin, se utiliza una sonda de 1,5 cm de diametro interior que accede al rumen a través de la cánula y a la que se aplica una ligera succión. El contenido ruminal se filtra con una doble capa de gasa para eliminar partículas groseras, colocándose en un matraz de fondo redondo y haciéndose pasar sobre él una corriente de  $\text{CO}_2$  con el fin de desplazar el aire que pudiera permanecer en su contacto; finalizada esta operación, se mantiene en estufa a  $38^{\circ}\text{C}$  hasta que se requiera su utilización.

#### Determinación de la digestibilidad según la técnica de la "bolsa de nylon".

La metodología, que aparece descrita por Hopson y colaboradores (1963), consiste en colocar por duplicado

alícuotas de 0,5 g de muestra desecada y molida en bolsas de material acrílico de 3x6 cm y 0,15 mm de diámetro de luz de malla. El extremo superior de estas bolsas se cierra con un hilo, igualmente acrílico, que permite suspenderlas en el fondo del rumen de un animal dotado de fístula ruminal permanente y alimentado con heno de alfalfa de buena calidad. Tras 24 horas de permanencia en el rumen se sacan las bolsas, lavándose a continuación repetidas veces con agua caliente para eliminar los residuos de contenido ruminal y el material solubilizado en el proceso de digestión. El contenido de la bolsa se trasvasa a una placa filtrante de porosidad 2 previamente desecada y tarada o a vasos de precipitado de 600 ml, para llevar a cabo las determinaciones de materia seca y materia orgánica en el primer caso o de FND, FAD y LAD, en el segundo caso.

La digestibilidad se expresa porcentualmente como cantidad de materia perdida tras la digestión de la muestra.

c) Experimento C.- Los ensayos de digestibilidad y balance "in vivo" se llevan a cabo igualmente en corderos de raza Segureña, machos castrados de doce meses de edad y cuyo peso medio es de 55 Kg al inicio de las experiencias.

A cada animal se le asigna al azar una de las dietas experimentales, utilizándose un total de seis corderos para cada una de dichas dietas. Los corderos se alojan individualmente en células de metabolismo diseñadas de forma que no exista contaminación del alimento con

excretas o viceversa y dotadas igualmente de excludor de heces y colector de orina, pudiendo los animales en todo momento acceder al agua libremente.

Las dietas experimentales se preparan en el momento de ofrecerse a los animales. La composición en ingredientes de las mismas aparece reflejada en el capítulo de resultados analíticos.

Dada la naturaleza extremadamente heterogénea de los distintos componentes de la ración, que puede dificultar sobremanera la obtención de alícuotas representativas de los restos de dieta, especialmente si estos son cuantiosos, la ingesta se fija a partir de datos experimentales previos, obtenidos individualmente de forma que los animales ingieran el mayor volumen posible de dieta sin dejar restos. No obstante, en aquellos casos en que el consumo no es total se toman alícuotas del material rehusado para proceder a su análisis.

En términos generales, cada ensayo de digestibilidad y balance consta de dos períodos: uno de adaptación a la dieta, previamente fijada como se ha mencionado anteriormente y cuya duración es de 25 días en los ensayos realizados con dietas que contienen bluret y de 10 días cuando las dietas contienen soja, y otro período, más propiamente experimental, de 10 días de duración y durante el cual se cuantifican diariamente las excreciones fecal y urinaria individuales, realizándose así mismo la recogida de alícuotas de alimento y excretas con vistas a su posterior análisis. Las muestras diarias acumuladas y correspondientes a cada uno de los animales se conservan a  $-20^{\circ}\text{C}$  en frascos herméticos. La metodología segui-



da aparece descrita en publicaciones anteriores de la Unidad de Fisiología Animal de la Estación Experimental del Zaidín, ajustándose a las recomendaciones de la Federación Europea de Zootecnia (Charlet-Lery, 1969).

En la obtención de la digestibilidad "in vivo" de las dietas experimentales se sigue el método directo. El coeficiente de digestibilidad viene dado por la expresión:

$$C.D = \frac{I - F}{I} \times 100$$

Donde:

C.D = coeficiente de digestibilidad del nutriente

I = cantidad de nutriente ingerido

F = cantidad de nutriente excretado en heces

Los datos relativos a balance de nitrógeno se obtienen deduciendo la excrección total de la ingesta correspondiente:

$$R = N_i - (N_f + N_u)$$

$$R' = \frac{N_i - (N_f + N_u)}{N_i} \times 100$$

$$EUA = \frac{N_i - (N_f + N_u)}{N_i - N_f} \times 100$$

Donde:

R = retención absoluta de nitrógeno

R' = retención porcentual de nitrógeno

EUA = eficacia de utilización aparente del nitrógeno absorbido

$N_i$  = nitrógeno ingerido

$N_f$  = nitrógeno fecal

$N_u$  = nitrógeno urinario

El contenido del bagazo de caña de azúcar en materia orgánica digestible se obtiene a partir de los datos de digestibilidad "in vivo" de las dietas experimentales, considerando un coeficiente de utilización digestiva para la materia orgánica de los restantes ingredientes de dichas dietas del 90%.

Finalmente y puesto que la riqueza en extracto etéreo del bagazo de caña de azúcar es prácticamente despreciable, su contenido en materia orgánica digestible puede tomarse como una medida de su valor nutritivo expresado en TDN.

El ensayo de ingesta voluntaria se lleva a cabo en ocho lotes de cinco animales experimentales, de 58 Kg de peso medio, que consumen las dietas de mayor contenido de nitrógeno empleadas en los ensayos de digestibilidad.

Cada lote se aloja independientemente en uno de los compartimentos de que constan las instalaciones para ganado de la Estación Experimental del Zaidín y consume una de las dietas experimentales, asignadas al azar.

Las raciones se preparan de la manera que se ha especificado para los ensayos de digestibilidad y se ofrecen en cantidad suficiente para obtener al menos un 15% de restos.

El ensayo se divide en dos períodos: uno preliminar, de adaptación, de 25 y 10 días respectivamente, -

para las dietas que contienen biuret y soja como fuente nitrogenada, al que sigue un período experimental de 15 días de duración, a lo largo del cual se cuantifica el consumo de alimento. Así mismo, se toman alícuotas diarias tanto de la ración como de los restos de dieta, que se conservan a  $-20^{\circ}\text{C}$ , para proceder al término del ensayo a la determinación en una muestra media de su contenido en materia seca. En todo momento los animales tienen libre acceso al agua y al alimento.

Los corderos se pesan individualmente al inicio y término de este período y los resultados de ingesta en materia seca se expresan en función del peso medio del lote.

### 3.4.- Técnicas microbiológicas

En el curso del experimento A se llevan a cabo determinaciones de la microflora total viable (bacterias mesofílicas y hongos) sobre muestras representativas del bagazo desecado y sometido a los distintos tratamientos con álcali y sobre muestras del mismo conservadas en condiciones de anaerobiosis durante 25 días a temperatura ambiente y en bolsas de plástico colocadas en recipientes herméticos. En este último caso, la estabilidad del producto se estudia mediante una serie de determinaciones llevadas a cabo en muestras expuestas al aire, extendidas sobre placas Petri durante 10 días.

En todos los casos alícuotas de 10g de bagazo, tomadas asépticamente, se maceran con 100 ml de agua desti

lada, realizándose diluciones seriadas del macerado (1 ml: 9 ml) hasta alcanzar la concentración  $10^{-8}$ . Sobre placas Petri se siembra 1 ml. de cada una de las diluciones en extracto de levadura - agar (Woolford, 1976) y se incuban a 30°C durante 5 días, procediéndose al recuento al cabo de este tiempo.

La composición del medio empleado es la siguiente:

PO <sub>4</sub> H <sub>2</sub> K .....	0,6 g
SO <sub>4</sub> Mg .....	0,2 g
ClNa .....	0,2 g
Agua de levadura .....	300 ml
Pectona .....	3,0 g
Glucosa .....	10,0 g
Agua .....	100 ml
Agar .....	15,0 ml
pH = 6,0 - 6,5	

### 3.5.- Técnicas analíticas

#### Preparación de las muestras

##### a) Alimentos:

Bagazo. - Es operación previa al análisis la división de una muestra representativa en partículas de tamaño tal que permita su paso a través de un tamiz de 1 mm de luz, evitando durante el proceso las pérdidas de humedad. Esto se consigue mediante el uso de un molino refrigerado.

Alícuotas del bagazo inicial y del bagazo sometido a los distintos tratamientos alcalinos se desecan en

estufa de ventilación forzada a 80°C para determinar su contenido en materia seca. Seguidamente las muestras se exponen al aire durante 48 horas y por último se dividen del modo ya descrito. Sobre alícuotas de estas muestras desecadas, expuestas al aire para conseguir que su contenido en agua esté en equilibrio con el ambiental, y finalmente divididas se llevan a cabo las determinaciones de su contenido en nutrientes según los esquemas analíticos de Weende y de van Soest, así como las correspondientes a calcio, fósforo, sodio total y sodio residual.

Torta de soja.- Las determinaciones analíticas se realizan sobre alícuotas de material original finamente divididas en molino refrigerado, como se ha indicado - para el caso del bagazo.

Biuret.- Muestras tanto del producto comercial, Biuremix, como del biuret purificado, se utilizan directamente para realizar las determinaciones analíticas pertinentes.

Melazas.- Los análisis correspondientes se llevan a cabo sobre una muestra media, formada por alícuotas tomadas a distintas alturas del recipiente que las contiene.

b) Excretas

Las muestras correspondientes a la excreción fecal media individual que se conservan a -20°C se descongelan y homogenizan exhaustivamente, llevándose a cabo las determinaciones analíticas sobre alícuotas de este material.

Las muestras de orina conservadas igualmente a  $-20^{\circ}\text{C}$  se descongelan y filtran, procediéndose seguidamente a la determinación de su contenido en nitrógeno.

#### Determinaciones analíticas.

Materia seca.- Determinada como la pérdida de peso que experimenta una muestra tras someterla durante un período adecuado de tiempo a  $103\pm 1^{\circ}\text{C}$ . Unos 5-10 g, pesados con precisión de  $\pm 1$  mg, se disponen en pesasustancias previamente desecados a  $103\pm 1^{\circ}\text{C}$ ; enfriados en desecador durante al menos media hora y tarados. Las muestras se tienen en estufa 18-20 horas hasta peso constante.

Cenizas.- Se obtienen por calcinación de 1-2 g de la muestra a  $550^{\circ}\text{C}$  durante 3 horas en horno eléctrico.

El contenido en materia orgánica se obtiene como la diferencia entre 100 y el contenido porcentual de cenizas totales de la muestra en materia seca.

Proteína bruta.- Se calcula a partir de los datos obtenidos en la determinación del nitrógeno total por el método Kjeldahl a los que se aplica el factor multiplicador 6,25. Como catalizador se emplea sulfato potásico y agua oxigenada. Se mineralizan 1-2 g de muestra (10-15 ml de orina)-de acuerdo con su contenido estimado en nitrógeno- con 20-30 ml de ácido sulfúrico y 5 g de la sal potásica, durante una hora. Una vez frío el mineralizado, se adicionan 5-10 ml de agua oxigenada de 110 volúmenes. Se prosigue la mineralización, repitiéndose la adición de agua oxigenada una hora más tarde, si se estima necesario.

La mineralización es completa cuando el contenido del matraz kjeldahl alcanza una total transparencia. La determinación del contenido en nitrógeno se realiza en una -- alícuota del mineralizado. El amoníaco formado en la oxidación total de la muestra se libera con exceso de hidróxido sódico, valorándose en el microdestilador de Bouat - con solución de ClH N/70 titulada con solución patrón de sulfato amónico. Como indicador se emplea rojo de metilo-verde de bromocresol.

Fracción fibrosa.-- Se determina según el esquema analítico ideado por van Soest (van Soest 1963; van Soest y Wine, 1967), siguiendo las técnicas propuestas -- por la Federación Europea de Zootecnia (van Es y van der Meer, 1980). Comprende las siguientes determinaciones:

a).- Fibra neutro detergente (Paredes celulares)

El material celular soluble se extrae por ebullición con una solución neutra de lauril sulfato sódico que contiene EDTA disódico, 2 - etoxietanol, borato sódico y fosfato disódico. Los componentes solubles - fácilmente utilizables desde el punto de vista nutritivo - se separan de aquellos que requieren una fermentación microbiana para su utilización digestiva. Este material insoluble en detergente neutro constituye la fibra neutro-detergente.

Alícuotas de 1 g de muestra, preparadas según se ha indicado anteriormente, se someten a ebullición lenta durante una hora con 100 ml de la solución de detergente neutro, adicionando 0,5 g de sulfito sódico y unas gotas de decalina como antiespumante y filtrándose al cabo de

este tiempo sobre crisoles de porosidad 1 previamente de secados y tarados; se lava repetidas veces con agua caliente y con acetona, desecándose en estufa a  $103 \pm 1^\circ\text{C}$ .

Los materiales solubles en detergente neutro se obtienen por diferencia entre 100 y el contenido porcentual de FND de la muestra en materia seca.

b).- Fibra ácido detergente.- Es el residuo, formado fundamentalmente por lignocelulosa, que se obtiene -- tras someter la muestra a ebullición con solución de bromuro de cetiltrimetilamonio en medio sulfúrico. Alícuotas de 1 g de la muestra adecuadamente preparada se hierven con 100 ml de la solución ácido detergente y unas gotas de decalina, como antiespumante. Tras una hora de ebullición lenta, las muestras se filtran sobre crisoles de porosidad 1 previamente desecados y tarados, lavándose repetidamente con agua caliente y finalmente con acetona y desecándose a  $103 \pm 1^\circ\text{C}$ .

La hemicelulosa se obtiene por diferencia entre los contenidos porcentuales de fibra neutro y ácido detergente de la muestra en materia seca.

c).- Lignina en fibra ácido detergente.- Es el constituyente de la pared celular formado fundamentalmente, aunque no exclusivamente, por lignina, que se obtiene como material residual al tratar con sulfúrico al 72% la fibra ácido detergente previamente determinada. A tal efecto, el crisol que contiene dicha fracción se coloca en el interior de un vaso de precipitado. Se añade el ácido en exceso y se deja estar durante 3 horas, efectuándose nuevas incorporaciones del sulfúrico conforme se requiera.



El contacto del ácido con la materia se favorece mediante agitación con una pequeña varilla de vidrio. Seguidamente, la muestra se lava repetidas veces con agua destilada caliente con ayuda de un ligero vacío, hasta que el agua no dé reacción ácida y después con acetona, desecándose a continuación a  $103 \pm 1^\circ\text{C}$ . Finalmente, se calcina a  $550^\circ\text{C}$ . El residuo libre de cenizas constituye la fracción denominada lignina ácido detergente.

La celulosa se obtiene por diferencia entre los contenidos porcentuales de FAD y LAD de la muestra en materia seca.

d).- Sílice.- El residuo mineral resultante de la obtención de la fracción de LAD se trata durante 90 minutos con 2-4 ml de ácido bromhídrico al 48%. El exceso de ácido se elimina al vacío y el residuo se lava con acetona, se seca y finalmente se calcina a  $550^\circ\text{C}$  durante 45 minutos. La sílice se determina como la fracción mineral insoluble en el ácido.

Determinación de pH.- Se realiza sobre material original sometido a maceración durante una hora con agua destilada en la relación 1:1. El macerado se prensa, filtrándose el líquido sobre tubos de ensayo que se conservan en frigorífico hasta proceder a su lectura en pHmetro o potenciómetro.

Sodio total.- Se determina por fotometría de llama previa mineralización por vía seca a  $450^\circ\text{C}$  de la muestra desecada y finamente molida. Las cenizas se extraen cuantitativamente con ácido clorhídrico. La solución se lleva a un volumen determinado y finalmente se -

calcula por fotometría comparándose frente a una serie de patrones de cloruro sódico.

Sodio residual.- Determinado por valoración potenciométrica a pH 8 con ClH 0,01N, previa maceración de la muestra (aproximadamente 10 g) con 50 ml de agua destilada.

Calcio.- Su determinación se lleva a cabo por fotometría de absorción atómica. La muestra mineralizada por calcinación a 450°C se extrae siguiendo un procedimiento idéntico al descrito en la determinación de sodio total. Como patrones se emplean soluciones de carbonato cálcico. La interacción del fósforo se elimina con solución de óxido de lantano.

Fósforo.- Su determinación se realiza por lectura fotocolorimétrica a 468 nm del complejo de fosfovadomolibdato amarillo que en medio clorhídrico produce el ácido fosfórico en presencia de  $V^{5+}$  y  $Mo^{6+}$ . La técnica de mineralización y extracción se ha descrito anteriormente. Como patrones se utilizan soluciones de fosfato monopotásico.

Fibra bruta.- Es la fracción orgánica que resulta de someter la muestra a una doble hidrólisis. Las proteínas y carbohidratos solubles se hidrolizan por ebullición con una solución de ácido sulfúrico al 1,25%, eliminándose por filtración subsiguiente. Las grasas se hidrolizan por ebullición con solución de hidróxido sódico al 1,25% y los productos resultantes se eliminan igualmente por filtración. El material remanente, cuya fracción

orgánica está constituida fundamentalmente por celulosa y porciones variables de hemicelulosa y lignina, se deseca en estufa a  $103\pm 1^{\circ}\text{C}$  y, finalmente, se calcina a  $550^{\circ}\text{C}$ .

Extracto etéreo.- El material desecado se extrae en Soxhlet con éter etílico durante unas 20 horas. El matraz que contiene la grasa extraída se deseca en estufa - a unos  $60^{\circ}\text{C}$ , calculándose el contenido en extracto etéreo como el incremento de peso experimentado por el mismo.

Materias extractivas libres de nitrógeno.- Se obtienen por diferencia entre 100 y la suma de los contenidos porcentuales de agua, proteína bruta, extracto - etéreo, fibra bruta y cenizas. Esta fracción incluye carbohidratos solubles, tales como almidón y azúcares, hemicelulosa y pentosanas, junto a otras sustancias de índole diversa, tales como ácidos orgánicos, sustancias hidrosolubles etc., presentes en pequeñas cantidades. Contiene - además porciones variables de lignina, solubilizada en la hidrólisis alcalina a que se somete la muestra para la determinación de la fibra bruta y que, a diferencia de los restantes componentes, carece de valor nutritivo.

Biuret.- Determinado por lectura espectrométrica a 570 nm previo tratamiento con sulfato de cobre y solución alcalina de tartrato sódico potásico. La lectura se realiza frente a una serie patrón de biuret p.a., purificado por disolución en alcohol absoluto en caliente, evaporación parcial del disolvente, cristalización por - enfriamiento a  $5^{\circ}\text{C}$  y filtración. El producto se deseca a  $60^{\circ}\text{C}$ .

Urea.- Se determina fotocolorimétricamente por

lectura a 420 nm del complejo amarillo que forma con p-di metilaminobenzaldehído en medio clorhídrico. Como patrones se utilizan soluciones de urea p.a. recién preparadas en buffer de fosfato.

### 3.6.- Tratamiento estadístico

#### 1) Experimento A:

Los resultados analíticos derivados del estudio del efecto de la intensidad del tratamiento alcalino sobre la composición química del bagazo, agrupados al azar por tratamientos, se someten al necesario contraste estadístico mediante el análisis de la varianza y posterior test de comparación de medias utilizando la t de Tukey. En la Tabla A se recoge la partición de la varianza y el esquema de cálculo.

#### 2) Experimento B:

El diseño experimental utilizado para estudiar la influencia del tratamiento con hidróxido sódico sobre la digestibilidad "in vitro", según Tilley-Terry (1963) así como sobre la digestibilidad "en bolsa de nylon", según Hopson y colaboradores (1963), es igualmente el de un experimento al azar en el que el estudio estadístico de los resultados se realiza mediante el correspondiente análisis de la varianza y el test de comparación de medias con la t de Tukey. El esquema de cálculo aparece también en la Tabla A.

En cada caso y con objeto de conocer la tendencia que presenta la variable al aumentar los niveles del

álcali , se analizan las componentes lineal, cuadrática y cúbica, descomponiendo ortogonalmente la suma de cuadrados del tratamiento.

Los coeficientes de contraste y sus grados de libertad aparecen en la Tabla B.

### 3) Experimento C:

Con el propósito de conocer el efecto del tratamiento alcalino, la influencia de la calidad de la fuente nitrogenada y del nivel de la misma en la dieta, se decide utilizar un diseño factorial  $4 \times 2 \times 2$  en el que el factor concentración de NaOH se estudia a cuatro niveles y los restantes factores, esto es, origen y nivel del nitrógeno en la dieta, a dos. Este diseño permite discernir acerca de la naturaleza e importancia de las posibles interacciones entre los factores ya señalados.

La variabilidad individual, observada en anteriores trabajos de la Unidad Estructural de Fisiología - Animal de la Estación Experimental del Zaidín, nos inclina a realizar seis observaciones por cada combinación de tratamientos y nivel, número de réplicas que se estima suficiente para conseguir la definición necesaria a nuestros fines.

La falta de algunas observaciones, producida por fallas experimentales, se repone con las medias de cada grupo, disminuyéndose en tantas unidades como datos faltan el número de grados de libertad correspondiente a la componente del error.

El estudio de la tendencia detallada en su componente lineal, cuadrática y cúbica, para el efecto de la intensidad del tratamiento con hidróxido sódico se realiza de modo análogo al llevado a cabo en el experimento B. Este modelo se sigue para todas las variables estudiadas.

En la Tabla C se resume la partición de la varianza y todo el esquema de cálculo seguido en este análisis factorial.

La posible influencia del comportamiento social o agrupamiento de los animales sobre el nivel de ingesta nos decide a completar el experimento con un ensayo en el que los animales se reúnen en grupos o permanecen aislados en jaulas de metabolismo. El diseño experimental utilizado es un factorial  $4 \times 2 \times 2$  con el fin de conocer la influencia en la ingesta del efecto del tratamiento alcalino (cuatro niveles), de la fuente de nitrógeno (dos niveles) y del distinto comportamiento de los animales aislados o en grupos (dos niveles).

Los datos experimentales corresponden a ingestas medias de lote expresadas en MS/Kg  $P^{0.75}$ .

El esquema de cálculo es análogo al utilizado en los ensayos de digestibilidad que aparece reflejado en la Tabla C, si bien el tercer factor corresponde al efecto del comportamiento social y no al nivel de nitrógeno, como ocurría en aquellos.

Al disponer sólo de un dato experimental (media del grupo) no podemos separar el efecto de la interacción de tercer orden y la componente de la variabilidad individu



dual.

La prueba F para las interacciones (1) x (2), (2) x (3) indica que con ellas se estima la misma fracción de la varianza que con la componente del error, por lo que se procede a englobarlas en el error. La suma de cuadrados y los grados de libertad correspondientes se suman a los del error, aumentándose así el poder de definición del análisis de la varianza. Los niveles de significación encontrados para las distintas fuentes de variación se recogen en la Tabla XVI.

Posteriormente se realiza un test de comparación de medias (t de Tukey), cuyos resultados aparecen reflejados en la Tabla XVII.

TABLA A.- PARTICION DE LA VARIANZA Y ESQUEMA DE CALCULO SEGUIDO EN LOS EXPERIMENTOS A Y B

$X_{ij} = \mu + A_i + B_j (i)$			
<u>Fuentes de variación</u>	<u>G.L.</u>	<u>S.C.</u>	<u>Esperanza de C.M.</u>
Efecto NaOH	3	$\frac{1}{n} \sum_i X_{i.}^2 - \frac{X_{..}^2}{4n}$	$\sigma^2 + n\sigma_t^2$
Error	$4(n-1)$	$\sum_{ij} X_{ij}^2 - \frac{1}{n} \sum_i X_i^2$	$\sigma^2$
Total	$4n-1$	$\sum_{ij} X_{ij}^2 - \frac{X_{..}^2}{4n}$	



TABLA B.- DESCOMPOSICION ORTOGONAL DEL EFECTO DEL TRATAMIENTO ALCALINO

Coeficientes de ortogonalidad					
NaOH g/100g bagazo	0	2	4	6	$\sum K^2$
Lineal ( $C_{1i}$ )	-3	-1	1	3	20
Cuadrático ( $C_{2i}$ )	1	-1	-1	1	4
Cúbico ( $C_{3i}$ )	-1	3	-3	1	20
<u>Fuentes de variación</u>		<u>G.L.</u>		<u>S.C.</u>	
Efecto NaOH		3		$\frac{1}{n} \sum_i X_i.^2 - \frac{X_{..}^2}{4n}$	
Lineal		1		$(X_i \dots x C_{1i})^2 / 20.n$	
Cuadrático		1		$(X_i \dots x C_{2i})^2 / 4.n$	
Cúbico		1		$(X_i \dots x C_{3i})^2 / 20.n$	

TABLA C.- PARTICION DE LA VARIANZA Y ESQUEMA DE CALCULO (4 x 2 x 2)

$$X_{ijkl} = \mu + A_i + B_j + C_k + AB_{ij} + AC_{ik} + BC_{jk} + ABC_{ijk} + D_l(ijk)$$

$$A^2 = \sum_i \frac{X_i^2 \dots}{n_{i..}}$$

$$AB^2 = \sum_{ij} \frac{X_{ij}^2 \dots}{n_{ij.}}$$

$$ABC^2 = \sum_{ijk} \frac{X_{ijk}^2}{n_{ijk}}$$

$$B^2 = \sum_j \frac{X^2 \dots_j}{n \cdot j}$$

$$AC^2 = \sum_{ik} \frac{X_{i.k}^2}{n_{i.k}}$$

$$ABCD^2 = \sum_{ijkl} X_{ijkl}^2$$

$$C^2 = \sum_k \frac{X^2 \dots_k}{n \cdot k}$$

$$BC^2 = \sum_{jk} \frac{X^2 \dots_{jk}}{n \cdot jk}$$

$$S.G. = \frac{X^2 \dots}{n \dots}$$

<u>Fuentes de variación</u>	<u>G.L.</u>	<u>S.C.</u>	<u>E.C.M.</u>
Efecto NaOH (1)	3	$A^2 - S.G.$	$\sigma^2 + 4 n \sigma^2$
Efecto nivel N (2)	1	$B^2 - S.G.$	$\sigma^2 + 8 n \sigma^2^A$
Efecto fuente N (3)	1	$C^2 - S.G.$	$\sigma^2 + 8 n \sigma^2^B$
(1) x (2)	3	$AB^2 - A^2 - B^2 + S.G.$	$\sigma^2 + 2 n \sigma^2^C$
(1) x (3)	3	$AC^2 - A^2 - C^2 + S.G.$	$\sigma^2 + 2 n \sigma^2^{AB}$
(2) x (3)	1	$BC^2 - B^2 - C^2 + S.G.$	$\sigma^2 + 4 n \sigma^2^{AC}$
(1) x (2) x (3)	3	$ABC^2 - AB^2 - AC^2 - BC^2 + A^2 + B^2 + C^2 - S.G.$	$n \sigma^2 + ABC + \sigma^2^{BC}$
Error	80-a	$ABCD^2 - ABC^2$	$\sigma^2$
Total	195-a	$ABCD^2 - S.G.$	

#### 4.- RESULTADOS

#### 4.- RESULTADOS

##### 4.1.- Resultados analíticos

##### 4.1.1.- Composición analítica del bagazo de caña de azúcar previa a su tratamiento alcalino y ensilado

La composición analítica media del bagazo inicial aparece en la Tabla I. Su estudio pone de manifiesto que se trata de un subproducto con un bajísimo contenido en proteína, gran parte de la cual está probablemente ligada a la fracción lignocelulósica y que su naturaleza es fundamentalmente de carácter fibroso. Los componentes de la pared celular (FND) suponen más del 93% de la materia seca del bagazo; esta fracción está constituida mayoritariamente por celulosa (56,0%) y hemicelulosa (31,5%), en tanto que la lignina alcanza solo el 12,5%.

Por último, es de destacar su elevado contenido en agua que puede constituir un serio obstáculo para su transporte y almacenamiento.

##### 4.1.2.- Composición analítica del bagazo de caña de azúcar tratado con hidróxido sódico y ensilado

En la Tabla II figuran los datos medios correspondientes a la composición nutritiva del bagazo de caña de azúcar tratado con soluciones pulverizadas de NaOH de concentraciones crecientes entre 0 y 6% en la relación 1:1 y ensilado durante un período de, al menos, 90 días.

TABLA I.- COMPOSICION ANALITICA MEDIA DEL BAGAZO DE CAÑA DE AZUCAR PREVIA A SU TRATAMIENTO ALCALINO Y ENSILADO (% materia seca)

Materia orgánica	96,01
Nitrógeno total	0,537
Extracto etéreo	0,76
Fibra bruta	47,42
M.E.L.N.	44,47
FND	93,63
FAD	64,12
LAD	11,66
SDN	6,37
Hemicelulosa	29,51
Celulosa	52,46
Cenizas	3,99
Sílice	1,50
Calcio	0,320
Fósforo	0,017
Materia seca	41,52

TABLA II.- EFECTO DEL TRATAMIENTO ALCALINO Y DEL ENSILADO SOBRE LA COMPOSICION NUTRITIVA DEL BAGAZO DE CAÑA DE AZUCAR (% materia seca).

Nivel de NaOH (g/100 g de bagazo<sup>(1)</sup>)

	0	2	4	6	Nivel de significación (2)
FND	94,53 ± 0,64 <sup>c</sup>	89,51 ± 0,76 <sup>b</sup>	85,96 ± 0,59 <sup>b</sup>	72,73 ± 1,35 <sup>a</sup>	***
FAD	65,11 ± 0,80	64,61 ± 1,02	65,20 ± 0,15	62,19 ± 1,96	NS
LAD	12,00 ± 0,72 <sup>b</sup>	11,46 ± 0,31 <sup>bc</sup>	9,93 ± 0,30 <sup>ac</sup>	9,00 ± 0,45 <sup>a</sup>	**
SDN	5,47 ± 0,64 <sup>a</sup>	10,49 ± 0,76 <sup>b</sup>	14,89 ± 0,44 <sup>c</sup>	27,27 ± 1,35 <sup>d</sup>	***
Hemicelulosa	29,42 ± 1,33 <sup>c</sup>	24,90 ± 1,49 <sup>bc</sup>	20,76 ± 0,44 <sup>b</sup>	10,54 ± 0,96 <sup>a</sup>	***
Celulosa	53,11 ± 0,98	53,16 ± 0,95	55,28 ± 0,32	53,19 ± 1,90	NS
Nitrógeno total	0,491 ± 0,020	0,518 ± 0,017	0,493 ± 0,020	0,572 ± 0,033	NS
Cenizas	3,28 ± 0,21 <sup>a</sup>	7,85 ± 0,10 <sup>b</sup>	9,93 ± 0,50 <sup>b</sup>	16,28 ± 0,94 <sup>c</sup>	***
Sílice	1,50 ± 0,30	1,34 ± 0,16	1,34 ± 0,16	1,54 ± 0,16	NS
Na total	Trazas	1,31	2,32	3,70	
Na residual	Trazas	0,32	0,43	1,17	
Materia seca	43,89 ± 0,82	45,06 ± 1,86	48,62 ± 0,39	44,18 ± 1,96	NS
pH	6,95	9,70	10,00	10,15	

(1) MS ≥ 75%

(2) \*\*\* = P < .001; \*\* = P < .01; NS = No significativo. Efecto del tratamiento

NOTA: Los valores afectados por la misma letra no difieren significativamente (P < .05)

Estos resultados ponen de manifiesto que los contenidos en materia seca correspondientes al bagazo sometido a los distintos niveles de álcali son muy similares. El pH aumenta marcadamente al aplicar el NaOH al 2%, continuando ligeramente este aumento con la incorporación del álcali - al nivel del 4% y permanece prácticamente constante cuando la concentración adicionada es superior a este nivel.

El contenido porcentual en FND experimenta un descenso significativo ( $P < .001$ ) al elevarse los niveles de álcali. Por el contrario, no se aprecian diferencias significativas en la FAD debidas a la acción de la base, aunque la incorporación de NaOH al 6% provoca una ligera reducción que carece de significación estadística en el valor porcentual de esta fracción. El descenso en FND se debe fundamentalmente a la solubilización de las hemicelulosas, cuyo porcentaje en el bagazo experimenta una marcada reducción -- ( $P < .001$ ) con la adición del álcali. Así mismo se produce un descenso del contenido en LAD ( $P < .01$ ), cuya contribución al declive experimentado en el valor porcentual de la fracción FND es de escasa entidad.

Los resultados analíticos relativos al contenido de nitrógeno no revelan diferencias estadísticamente válidas imputables al tratamiento alcalino.

El contenido en cenizas experimenta un aumento significativo ( $P < .001$ ) con la incorporación creciente de álcali. Los niveles de sílice, que no son cuantitativamente importantes en el subproducto, no sufren, por el contrario, alteraciones significativas derivadas de la acción del álcali.

El estudio comparativo de la composición nutritiva del bagazo inicial y del bagazo ensilado previa adición de agua a partes iguales (Nivel 0 de NaOH) indica que, en líneas generales, las diferencias entre contenidos porcentuales de los nutrientes en uno y otro son de escasa o nula significación nutritiva.

#### 4.1.3.- Composición analítica de los ingredientes de las dietas experimentales

Las Tablas III<sub>a</sub> a III<sub>d</sub> recogen los datos medios relativos a la composición nutritiva del bagazo de caña de azúcar tratado químicamente y ensilado, que se utiliza como ingrediente básico en la elaboración de las distintas dietas ensayadas en el experimento C.

Pueden observarse algunas diferencias entre los valores porcentuales del material sometido a un mismo tratamiento; estas son sin embargo de pequeña entidad.

En la Tabla IV figuran los datos analíticos correspondientes al resto de los componentes de la ración. Estos ingredientes contribuyen mayoritariamente a formar la fracción de componentes solubles en detergente neutro (SND).

#### 4.1.4.- Composición analítica de la excreción fecal y urinaria

Los resultados analíticos medios correspondientes a la excreción fecal diaria obtenida en los ensayos de digestibilidad y balance del experimento C aparecen -



TABLA IIIa.- COMPOSICION ANALITICA DEL BAGAZO DE CAÑA DE AZUCAR UTILIZADO EN LOS ENSAYOS OB Y OS (% materia seca).

Ensayos	OB <sub>1</sub>	OB <sub>2</sub>	OS <sub>1</sub>	OS <sub>2</sub>
Materia orgánica	96,47	96,25	97,36	96,79
Nitrógeno total	0,430	0,528	0,482	0,523
FND	96,22	92,65	94,31	94,95
FAD	64,93	67,63	64,72	63,16
LAD	11,11	13,40	10,10	13,40
SDN	3,78	7,35	5,69	5,05
Hemicelulosa	31,29	25,02	29,59	31,79
Celulosa	53,82	54,23	54,62	49,76
Cenizas	3,53	3,75	2,64	3,21
Sílice	1,18	2,40	0,76	1,66
Materia seca	41,61	44,81	45,94	43,21

TABLA IIIb.- COMPOSICION ANALITICA DEL BAGAZO DE CAÑA DE AZUCAR UTILIZADO EN LOS ENSAYOS 2B y 2S  
(% materia seca).

Ensayos	2B <sub>1</sub>	2B <sub>2</sub>	2S <sub>1</sub>	2S <sub>2</sub>
Materia orgánica	92,46	92,05	92,21	91,90
Nitrógeno total	0,460	0,523	0,547	0,543
FND	87,54	88,90	91,68	89,92
FAD	64,22	68,03	63,25	62,94
LAD	10,45	12,02	11,95	11,40
SDN	12,46	11,10	8,32	10,08
Hemicelulosa	23,32	20,87	28,43	26,98
Celulosa	53,77	56,01	51,30	51,54
Cenizas	7,54	7,95	7,79	8,10
Sílice	1,85	1,38	1,14	0,98
Materia seca	50,37	40,21	43,52	46,15

TABLA IIIc.- COMPOSICION ANALITICA DEL BAGAZO DE CAÑA DE AZUCAR UTILIZADO EN LOS ENSAYOS 4B y 4S (% materia seca).

Ensayos	4B <sub>1</sub>	4B <sub>2</sub>	4S <sub>1</sub>	4S <sub>2</sub>
Materia orgánica	88,77	89,45	91,02	91,06
Nitrógeno total	0,557	0,449	0,471	0,494
FND	85,64	87,60	84,31	86,29
FAD	65,02	65,63	64,82	65,34
LAD	9,31	10,57	10,48	9,34
SDN	15,80	14,36	15,69	13,71
Hemicelulosa	20,62	21,97	19,49	20,95
Celulosa	55,71	55,06	54,34	56,00
Cenizas	11,23	10,55	8,98	8,94
Sílice	1,82	1,38	0,92	1,22
Materia seca	47,96	48,57	48,04	49,90

TABLA IIIId.- COMPOSICION ANALITICA DEL BAGAZO DE CAÑA DE AZUCAR UTILIZADO EN LOS ENSAYOS 6B Y 6S (% materia seca).

Ensayos	6B <sub>1</sub>	6B <sub>2</sub>	6S <sub>1</sub>	6S <sub>2</sub>
Materia orgánica	85,42	81,56	85,77	82,15
Nitrógeno total	0,681	0,509	0,543	0,556
FND	68,91	76,52	72,73	72,75
FAD	56,01	65,97	61,60	65,16
LAD	9,19	9,26	7,53	10,01
SDN	31,09	23,48	27,27	27,25
Hemicelulosa	12,90	10,55	11,13	7,59
Celulosa	46,82	56,71	54,07	55,15
Cenizas	14,58	18,44	14,23	17,85
Sílice	2,07	1,21	1,38	1,51
Materia seca	49,12	43,09	46,02	38,49

TABLA IV.- COMPOSICION ANALITICA DE LOS RESTANTES CONSTITUYENTES DE LAS DIETAS EXPERIMENTALES (% materia seca).

	Melazas de remolacha	Biuret purificado	Torta de soja	Almidón de trigo	Suplemento vit.-min.(B)	Suplemento vit.-min.(S)
Materia orgánica	84,66	100,00	93,46	99,80	8,92	8,76
Nitrógeno total	2,24	42,75	8,03	-	-	-
FND	-	-	17,15	-	-	-
FAD	-	-	16,74	-	-	-
LAD	-	-	0,89	-	-	-
SDN	-	-	82,85	-	-	-
Hemicelulosa	-	-	0,41	-	-	-
Celulosa	-	-	15,85	-	-	-
Cenizas	15,34	-	6,54	0,20	91,08	91,24
Sílice	-	-	0,027	-	-	-
Calcio	0,102	-	0,31	-	-	-
Fósforo	0,026	-	0,77	-	-	-
Biuret	-	60,00	-	-	-	-
Urea	-	36,20	-	-	-	-
Materia seca	77,79	97,27	88,13	89,95	97,21	97,71

recogidos para cada animal en las Tablas  $V_a$  a  $V_p$ . Se presta una consideración especial al estudio de los componentes de la pared celular puesto que derivan de manera absoluta o prácticamente exclusiva del bagazo de la dieta, subproducto que se trata de valorar. Puede observarse (Gráfica 2) que el tratamiento alcalino del bagazo reduce el contenido en FND de la excreción fecal. Por otro lado, el porcentaje de FAD no se modifica sensiblemente con la adición de NaOH al 2 ó 4% y aumenta de forma apreciable al elevarse este nivel al 6%, siendo el incremento en esta fracción paralelo al que experimenta la fracción de LAD (Gráfica 3). Es interesante señalar que la riqueza en celulosa (FAD - LAD) de esta FAD fecal no varía apreciablemente con el tratamiento alcalino del bagazo.

Los datos porcentuales correspondientes a estas raciones no presentan diferencias importantes derivadas del nivel de nitrógeno en la dieta. Sin embargo las cifras tienden a ser ligeramente inferiores en la excreción fecal correspondiente a las dietas que contienen soja.

La Tabla VI recoge los valores porcentuales de excreción de nitrógeno en la orina. Aunque las cifras varían extraordinariamente manifiestan una cierta tendencia a la disminución en los ensayos llevados a cabo con bagazo al que se adiciona las concentraciones superiores de NaOH.

TABLA Va.- COMPOSICION ANALITICA DE LA EXCRECION FECAL (% materia seca). ENSAYO OB<sub>1</sub>.

Animales	1	2	3	4
Materia orgánica	85,71	89,09	87,32	86,02
Nitrógeno total	1,309	1,479	1,187	1,213
FND	68,33	72,14	72,57	70,14
FAD	43,74	46,40	46,63	46,23
LAD	9,56	9,94	9,53	9,81
SDN	31,67	27,86	27,43	29,86
Hemicelulosa	24,59	25,74	25,94	23,91
Celulosa	34,18	36,46	37,10	36,42
Cenizas	14,29	10,91	12,68	13,98
Materia seca	54,18	51,46	53,14	64,40

TABLA Vb.- COMPOSICION ANALITICA DE LA EXCRECION FECAL (% materia seca). ENSAYO OB<sub>2</sub>.

Animales	1	2	3	4
Materia orgánica	87,66	86,20	88,16	86,45
Nitrógeno total	1,209	1,435	1,337	1,359
FND	72,99	68,97	72,11	76,16
FAD	53,56	50,51	52,87	54,63
LAD	14,39	12,61	14,48	13,89
SDN	27,01	31,03	27,89	23,84
Hemicelulosa	19,43	18,46	19,24	21,53
Celulosa	39,17	37,90	38,39	40,74
Cenizas	12,34	13,80	11,84	13,35
Materia seca	60,62	56,65	68,05	71,81



TABLA Vc.- COMPOSICION ANALITICA DE LA EXCRECION FECAL (% materia seca). ENSAYO OS<sub>1</sub>.

Animales	1	2	3	4
Materia orgánica	84,27	88,00	81,53	-
Nitrógeno total	1,364	1,125	1,410	-
FND	67,08	78,08	64,10	-
FAD	46,37	53,49	42,70	-
LAD	10,63	11,52	8,61	-
SDN	32,92	21,92	35,90	-
Hemicelulosa	20,71	24,59	21,40	-
Celulosa	35,74	41,97	34,09	-
Cenizas	15,73	12,00	18,47	-
Materia seca	63,33	65,07	62,06	-

TABLA Vd.- COMPOSICION ANALITICA DE LA EXCRECION FECAL (% materia seca). ENSAYO OS<sub>2</sub>.

Animales	1	2	3	4
Materia orgánica	85,31	85,03	85,65	84,42
Nitrógeno total	1,428	1,278	1,243	1,414
FND	67,64	75,17	75,70	69,26
FAD	48,35	55,72	54,50	48,99
LAD	10,04	14,38	11,13	11,35
SDN	32,36	24,83	24,30	30,74
Hemicelulosa	19,29	19,45	21,20	20,27
Celulosa	38,31	41,34	43,37	37,64
Cenizas	14,69	14,97	14,35	15,58
Materia seca	58,61	64,38	56,63	55,36

TABLA Ve.- COMPOSICION ANALITICA DE LA EXCRECION FECAL (% materia seca). ENSAYO 2B<sub>1</sub>.

Animales	1	2	3	4	5	6
Materia orgánica	81,15	82,28	83,15	82,36	83,69	83,29
Nitrógeno total	1,394	1,573	1,598	1,448	1,493	1,404
FND	66,41	66,23	74,04	70,51	69,79	68,58
FAD	51,72	47,17	53,98	51,57	49,31	49,53
LAD	11,77	10,19	14,24	13,00	12,43	11,84
SDN	33,59	33,77	25,96	29,49	30,21	31,42
Hemicelulosa	14,69	19,06	20,06	18,94	20,48	19,05
Celulosa	39,95	36,98	39,74	38,57	36,88	37,69
Cenizas	18,85	17,72	16,85	17,64	16,31	16,71
Materia seca	55,53	45,20	58,96	59,61	42,42	55,26

TABLA Vf.- COMPOSICION ANALITICA DE LA EXCRECION FECAL (% materia seca). ENSAYO 2B<sub>2</sub>.

Animales	1	2	3	4	5	6
Materia orgánica	80,03	77,91	80,98	81,72	81,50	79,91
Nitrógeno total	1,497	2,719	1,828	1,510	1,611	1,729
FND	62,34	54,56	58,45	61,69	65,28	54,90
FAD	51,44	48,24	54,66	56,37	59,05	48,84
LAD	14,33	19,36	18,46	17,67	17,85	16,04
SDN	37,66	45,44	41,55	38,31	34,72	45,10
Hemicelulosa	10,90	6,32	3,79	5,32	6,23	6,06
Celulosa	37,11	28,88	36,20	38,70	41,20	32,80
Cenizas	19,97	22,09	19,02	18,28	18,50	20,09
Materia seca	50,38	43,05	35,62	40,07	45,55	47,82

TABLA Vg.- COMPOSICION ANALITICA DE LA EXCRECION FECAL (% materia seca). ENSAYO 2S<sub>1</sub>.

Animales	1	2	3	4
Materia orgánica	82,60	81,71	81,17	79,52
Nitrógeno total	1,401	1,514	1,252	1,463
FND	70,24	65,83	67,89	63,85
FAD	50,49	50,60	50,26	47,66
LAD	10,85	13,65	12,43	11,65
SDN	29,76	34,17	32,11	36,15
Hemicelulosa	19,75	15,23	17,63	16,19
Celulosa	39,64	36,95	37,83	36,01
Cenizas	17,40	18,29	18,83	20,48
Materia seca	53,55	58,38	60,69	55,50

TABLA Vh.- COMPOSICION ANALITICA DE LA EXCRECION FECAL (% materia seca). ENSAYO 2S<sub>2</sub>.

Animales	1	2	3	4	5	6
Materia orgánica	80,26	80,72	82,46	81,47	79,52	80,34
Nitrógeno total	1,510	1,511	1,357	1,593	1,398	2,018
FND	65,88	64,29	67,65	63,57	63,80	58,77
FAD	44,67	45,61	49,34	46,55	47,49	43,73
LAD	10,48	11,33	10,06	11,54	11,72	12,69
SDN	34,12	35,71	32,35	36,43	36,20	41,23
Hemicelulosa	21,21	18,68	18,31	17,02	16,31	15,04
Celulosa	34,19	34,28	39,28	35,01	35,77	31,04
Cenizas	19,74	19,28	17,54	18,53	20,48	19,66
Materia seca	35,89	38,97	31,55	39,17	44,98	37,31

TABLA Vi.- COMPOSICION ANALITICA DE LA EXCRECION FECAL (% materia seca). ENSAYO 4B<sub>1</sub>.

Animales	1	2	3	4	5	6
Materia orgánica	85,04	84,62	85,17	83,76	82,54	84,95
Nitrógeno total	1,931	1,683	1,574	1,478	1,480	1,930
FND	55,35	60,48	60,77	60,27	70,18	50,92
FAD	46,14	51,52	52,20	48,73	55,54	46,41
LAD	17,61	16,21	15,34	11,82	14,34	16,56
SDN	44,65	39,52	39,23	39,73	29,82	49,08
Hemicelulosa	9,21	8,96	8,57	11,54	14,64	4,51
Celulosa	28,53	35,31	36,86	36,91	41,20	29,85
Cenizas	14,96	15,38	14,83	16,24	17,46	15,05
Materia seca	51,33	32,45	42,25	47,77	49,40	48,14

TABLA Vj.- COMPOSICION ANALITICA DE LA EXCRECION FECAL (% materia seca). ENSAYO 4B<sub>2</sub>.

Animales	1	2	3	4	5	6
Materia orgánica	81,63	81,95	81,88	80,62	75,54	80,24
Nitrógeno total	1,680	1,491	1,443	1,494	2,273	1,634
FND	63,01	64,03	65,90	65,73	48,67	64,09
FAD	49,67	49,71	49,80	46,28	49,02	50,94
LAD	13,05	11,89	11,76	10,27	15,48	15,71
SDN	36,99	35,97	34,10	34,27	51,33	35,91
Hemicelulosa	13,34	14,32	16,10	19,45	- 0,35	13,15
Celulosa	36,62	37,82	38,04	36,01	33,54	35,23
Cenizas	18,37	18,05	18,12	19,38	24,46	19,76
Materia seca	36,36	39,84	45,54	45,98	45,59	45,90

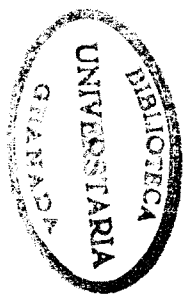




TABLA Vh.- COMPOSICION ANALITICA DE LA EXCRECION FECAL (% materia seca). ENSAYO 4S<sub>1</sub>.

Animales	1	2	3	4	5	6
Materia orgánica	81,13	82,12	81,00	82,05	79,23	85,94
Nitrógeno total	1,686	1,660	1,794	1,589	1,615	1,632
FND	61,57	59,20	56,62	57,62	58,93	62,84
FAD	45,64	44,72	44,37	44,99	46,26	46,95
LAD	12,85	10,83	12,02	12,62	12,91	12,06
SDN	38,43	40,80	43,38	42,38	41,07	37,16
Hemicelulosa	15,93	14,48	12,25	12,63	12,67	15,89
Celulosa	32,79	33,89	32,35	32,36	33,59	34,89
Cenizas	18,87	17,88	19,00	17,95	20,77	14,06
Materia seca	45,66	44,04	40,68	40,97	49,83	37,55

TABLA VI.- COMPOSICION ANALITICA DE LA EXCRECION FECAL (% materia seca). ENSAYO 4S<sub>2</sub>.

Animales	1	2	3	4	5	6
Materia orgánica	79,92	81,71	82,08	80,57	78,87	82,02
Nitrógeno total	1,978	1,795	1,810	1,636	1,634	1,790
FND	56,56	56,16	56,97	60,04	59,93	62,05
FAD	42,64	44,75	44,12	46,21	46,16	45,99
LAD	10,79	11,65	12,07	10,80	12,52	11,09
SDN	43,44	43,84	43,03	39,96	40,07	37,95
Hemicelulosa	13,92	11,41	12,85	13,83	13,77	16,06
Celulosa	31,85	33,10	32,05	34,41	33,64	34,90
Cenizas	20,08	18,29	17,92	19,43	21,13	17,98
Materia seca	33,11	46,90	36,29	41,92	47,01	42,30

TABLA Vm.- COMPOSICION ANALITICA DE LA EXCRECION FECAL (% materia seca). ENSAYO 6B<sub>1</sub>.

Animales	1	2	3	4	5	6
Materia orgánica	80,34	81,12	76,90	82,70	83,38	85,62
Nitrógeno total	1,860	1,946	1,805	1,930	1,927	1,852
FND	46,79	44,65	51,57	53,06	49,37	59,86
FAD	56,26	65,56	51,95	61,08	50,10	68,42
LAD	22,93	24,88	23,21	26,27	23,89	25,35
SDN	53,21	55,35	48,43	46,94	50,63	40,14
Hemicelulosa	- 9,47	-20,91	- 0,38	- 8,02	- 0,73	- 8,56
Celulosa	33,33	40,21	28,74	34,81	26,21	43,07
Cenizas	19,66	18,88	23,10	17,30	16,62	14,38
Materia seca	41,56	38,34	42,04	53,98	38,98	53,84

TABLA Vn.- COMPOSICION ANALITICA DE LA EXCRECION FECAL (% materia seca). ENSAYO 6B<sub>2</sub>.

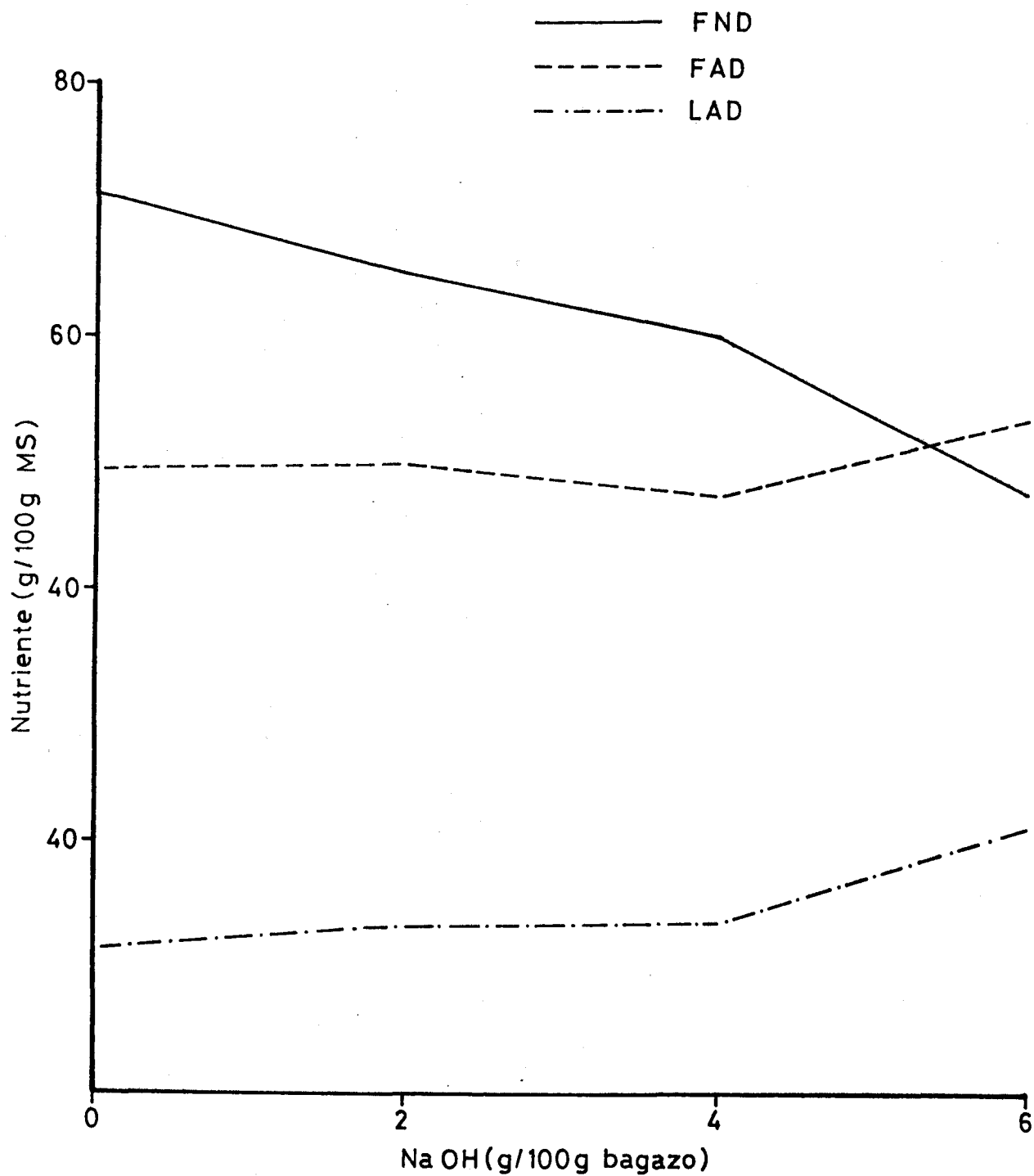
Animales	1	2	3	4	5	6
Materia orgánica	77,44	79,39	78,30	75,52	75,37	-
Nitrógeno total	1,964	2,206	2,143	1,779	2,079	-
FND	48,90	47,54	45,92	49,95	46,75	-
FAD	57,67	51,21	47,58	49,85	48,59	-
LAD	19,22	20,28	15,55	18,04	19,44	-
SDN	51,10	52,46	54,08	50,05	53,25	-
Hemicelulosa	- 8,77	- 3,67	- 1,66	0,10	- 1,84	-
Celulosa	38,45	30,93	32,03	31,81	29,15	-
Cenizas	22,56	20,61	21,70	24,48	24,63	-
Materia seca	43,83	38,67	43,21	51,93	45,45	-

TABLA Vo.- COMPOSICION ANALITICA DE LA EXCRECION FECAL (% materia seca). ENSAYO 6S<sub>1</sub>.

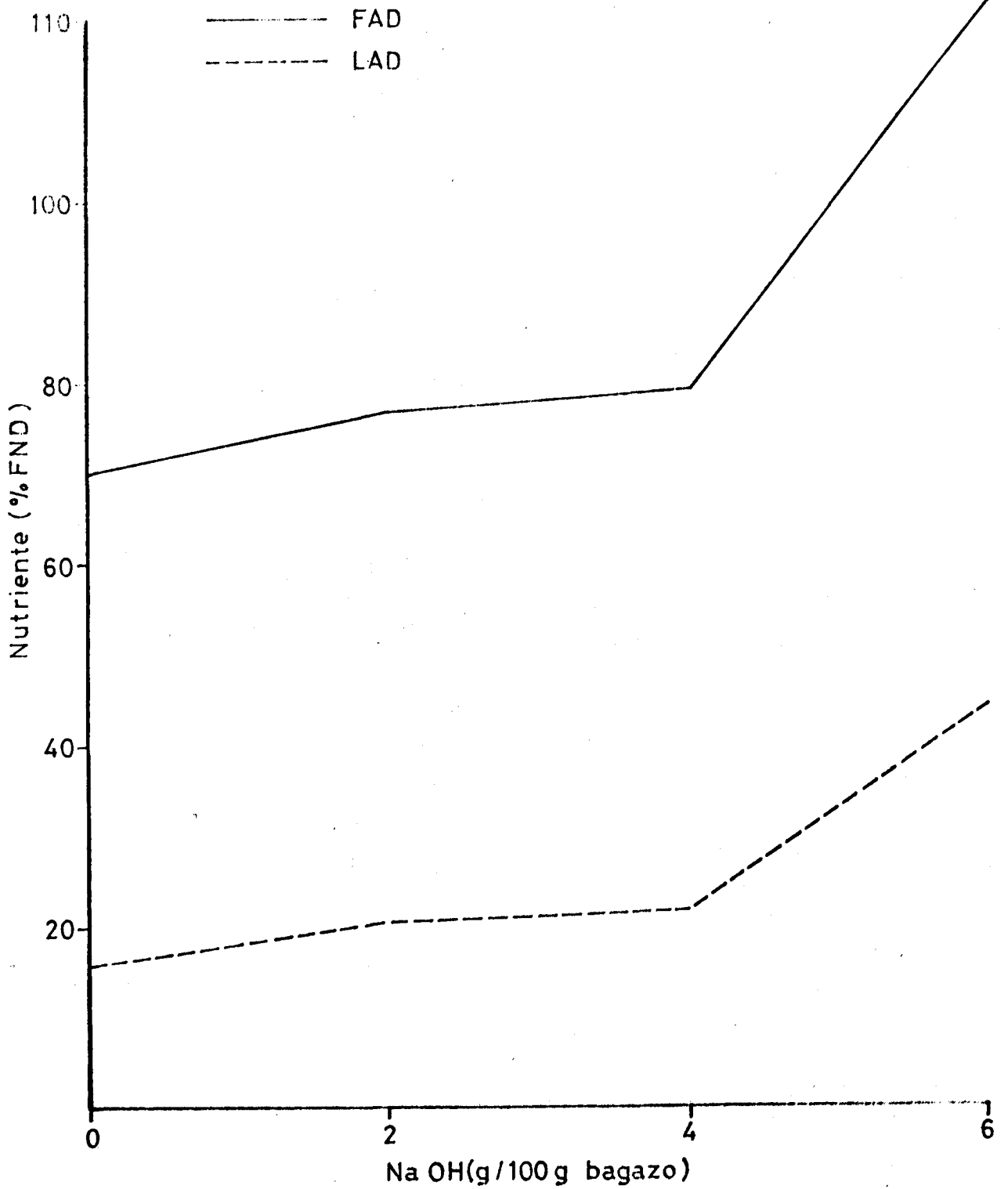
Animales	1	2	3	4	5	6
Materia orgánica	75,92	76,35	76,52	74,87	74,05	76,63
Nitrógeno total	2,052	2,227	2,011	2,058	1,989	2,345
FND	47,49	45,44	49,43	40,89	42,24	47,79
FAD	45,88	45,61	47,47	45,30	46,27	51,12
LAD	14,51	20,96	16,13	17,67	19,64	18,14
SDN	52,51	54,56	50,57	59,11	57,76	52,21
Hemicelulosa	1,61	- 0,17	1,96	- 4,41	- 4,03	- 3,33
Celulosa	31,37	24,65	31,34	27,63	26,63	32,98
Cenizas	24,08	23,65	23,48	25,13	25,95	23,37
Materia seca	44,60	41,50	44,20	50,69	52,08	40,93

TABLA Vp.- COMPOSICION ANALITICA DE LA EXCRECION FECAL (% materia seca). ENSAYO 6S<sub>2</sub>.

Animales	1	2	3	4	5	6
Materia orgánica	79,66	79,58	80,06	79,40	76,85	78,68
Nitrógeno total	2,108	2,150	1,816	1,948	1,972	2,425
FND	45,77	46,31	48,88	42,92	40,60	50,21
FAD	48,70	66,93	63,44	48,25	53,69	62,28
LAD	20,81	22,29	26,30	21,65	25,97	24,05
SDN	54,23	53,69	51,12	57,08	59,40	49,79
Hemicelulosa	- 2,93	-20,62	-14,56	- 5,33	-13,09	-12,07
Celulosa	27,89	44,64	37,14	26,60	27,72	38,23
Cenizas	20,34	20,42	19,94	20,60	23,15	21,32
Materia seca	41,27	39,67	42,46	43,73	50,71	44,79



Gráfica 2. Efecto del tratamiento alcalino del bagazo sobre la excreción de componentes de la pared celular



Gráfica 3. Efecto del tratamiento alcalino sobre la composición de la FND en la excreción fecal



TABLA VI.- CONTENIDO DE NITROGENO TOTAL EN LA ORINA  
(g/100 g sustancia original)

Ens.\Anim.	1	2	3	4	5	6
OB <sub>1</sub>	1,554	1,427	2,376	2,364	-	-
OB <sub>2</sub>	1,156	1,147	1,824	2,181	-	-
OS <sub>1</sub>	1,872	0,552	1,098	-	-	-
OS <sub>2</sub>	1,398	0,559	0,359	0,554	-	-
2B <sub>1</sub>	0,748	1,134	0,769	0,700	0,497	1,397
2B <sub>2</sub>	1,770	0,990	1,294	0,953	0,507	0,729
2S <sub>1</sub>	0,283	1,997	0,520	0,838	-	-
2S <sub>2</sub>	0,551	0,404	0,768	0,618	0,585	0,821
4B <sub>1</sub>	0,879	0,324	0,263	0,663	0,158	0,170
4B <sub>2</sub>	0,992	0,740	0,462	0,996	0,500	0,558
4S <sub>1</sub>	0,371	0,259	0,344	0,306	0,416	0,414
4S <sub>2</sub>	0,947	0,462	0,412	0,657	0,565	0,481
6B <sub>1</sub>	0,554	0,345	0,309	0,393	0,227	0,617
6B <sub>2</sub>	0,640	0,508	0,327	0,660	0,335	-
6S <sub>1</sub>	0,189	0,236	0,253	0,190	0,200	0,179
6S <sub>2</sub>	0,240	0,197	0,383	0,262	0,351	0,392

#### 4.2.- Resultados experimentales

##### 1) Experimento A

En el apartado 4.1.2. se ha estudiado el efecto del tratamiento químico sobre la composición nutritiva del bagazo de caña de azúcar ensilado (Tabla II). Por ello aquí sólo se prestará atención al efecto del tiempo de ensilado sobre el pH del bagazo tratado, así como al estudio de la estabilidad del ensilado juzgada por su microflora viable.

Las determinaciones de pH se llevan a cabo en alícuotas tomadas a los 2 y 25 días de las muestras de bagazo sometido a la acción de la base, conservadas en condiciones anaerobias a temperatura ambiente en bolsas de polietileno, alojadas en recipientes herméticos, y en alícuotas obtenidas de los silos torre a los 90 días de su ensilado. El pH aumenta marcadamente con la incorporación del álcali y con la intensidad del tratamiento. Durante el período subsiguiente hasta los 25 días de ensilado, el pH desciende en los silos que contienen bagazo tratado con álcali. La prolongación del período de ensilado no conduce a cambios profundos en el pH, como puede apreciarse en la Gráfica 4. El pH del bagazo tratado solo con agua, que inicialmente es ácido, experimenta por efecto del ensilado un ligero cambio hacia la neutralidad, que persiste al prolongarse el tiempo de permanencia en los silos.

El tratamiento alcalino modifica el pH del bagazo con mayor intensidad que el período de ensilado, el

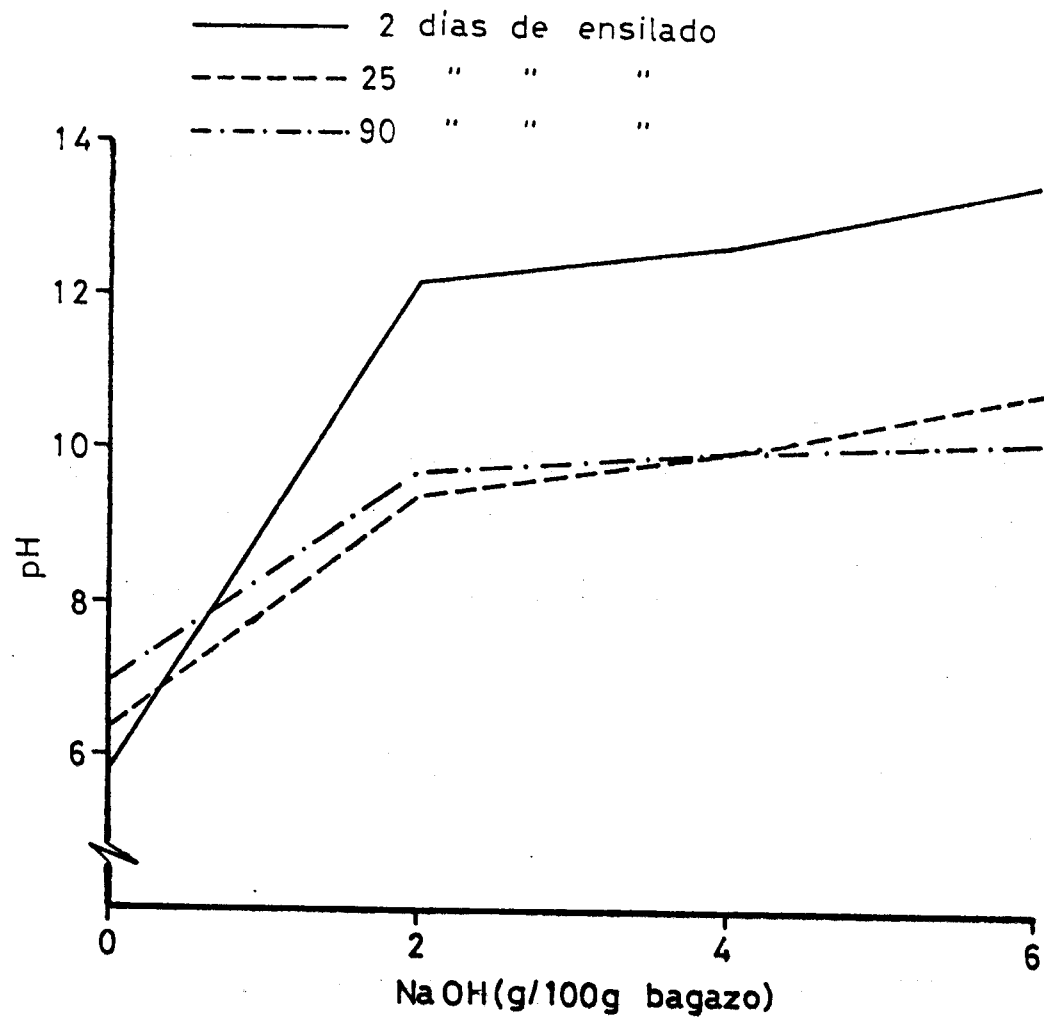
cual ejerce un claro efecto amortiguador.

La combinación de los factores tratamiento alcalino - ensilado afecta a las características organolépticas (color y olor) del bagazo. En este sentido, se observa que el subproducto no tratado con hidróxido sódico no presenta por efecto del ensilado modificaciones apreciables, con respecto al bagazo inicial, en su color y olor. Por el contrario, los ensilados de bagazo sometido al tratamiento alcalino presentan un color más oscuro. En cualquiera de los casos el olor del bagazo no recuerda al característico de un ensilado.

El estudio microbiológico se realiza, como ya se ha indicado en el apartado 3.4, tanto sobre muestras de bagazo inicial desecado hasta que su contenido en agua no supere el 25%, como del bagazo sometido a las distintas intensidades de tratamiento alcalino y conservado en condiciones de anaerobiosis a temperatura ambiente en bolsas de plástico. Los resultados obtenidos, expresados en número de microorganismos por gramo de producto fresco ( $n \cdot 10^7 / g$  materia original), se resumen a continuación:

NaOH, %	<u>Bagazo no ensilado</u>		<u>Bagazo ensilado</u>			
	<u>Bacterias</u>	<u>Hongos</u>	<u>0 días (1)</u>		<u>10 días (1)</u>	
			<u>Bact.</u>	<u>Hong.</u>	<u>Bact.</u>	<u>Hong.</u>
0	155	14	-	-	62	2,0
2	270	30	25	3,0	7,4	0,8
4	311	17	38	0,5	1,3	0,1
6	23	20	18	0,8	1,7	0,1

(1) Días de exposición al aire.



Gráfica 4. Efecto del tratamiento alcalino y del periodo de ensilado sobre el pH del bagazo de caña de azúcar.

El producto no ensilado tiene una riqueza microbiana mayor, especialmente cuando se trata con NaOH al 2 y 4%. Por encima de esta concentración la adición de álcali provoca un descenso considerable en el número de microorganismos. Ya ensilado, el contenido en microorganismos disminuye en un grado de magnitud.

## 2) Experimento B

En la Tabla VII se recogen los resultados relativos a los coeficientes medios tanto para la digestibilidad "in vitro", como para la digestibilidad "en bolsa de nylon" del bagazo de caña de azúcar.

En líneas generales, el valor de estos coeficientes es bajo particularmente en los ensayos "in vitro", si se comparan con los obtenidos en las experiencias "in vivo", realizadas con dietas en las que el bagazo constituye el 65% de la ración. Los coeficientes de digestibilidad de la materia orgánica del bagazo son en estos ensayos inferiores a los calculados a partir de las pruebas de digestibilidad "in vivo".

Como puede apreciarse en la Gráfica 5, la digestibilidad "in vitro" de la materia seca y de la sustancia orgánica del bagazo aumenta al elevarse el nivel de NaOH, efecto que tiende a ser más acusado con los niveles superiores del álcali. Este aumento es significativo tanto para la materia seca como para la sustancia orgánica ( $P < .001$  y  $P < .01$ , respectivamente). Las componentes lineal y cuadrática del efecto del tratamiento alcalino son igualmente significativas ( $P < .001$ , para ambas componentes

TABLA VII.- COEFICIENTES DE DIGESTIBILIDAD MEDIOS CORRESPONDIENTES A LOS ENSAYOS DEL EXPERIMENTO B

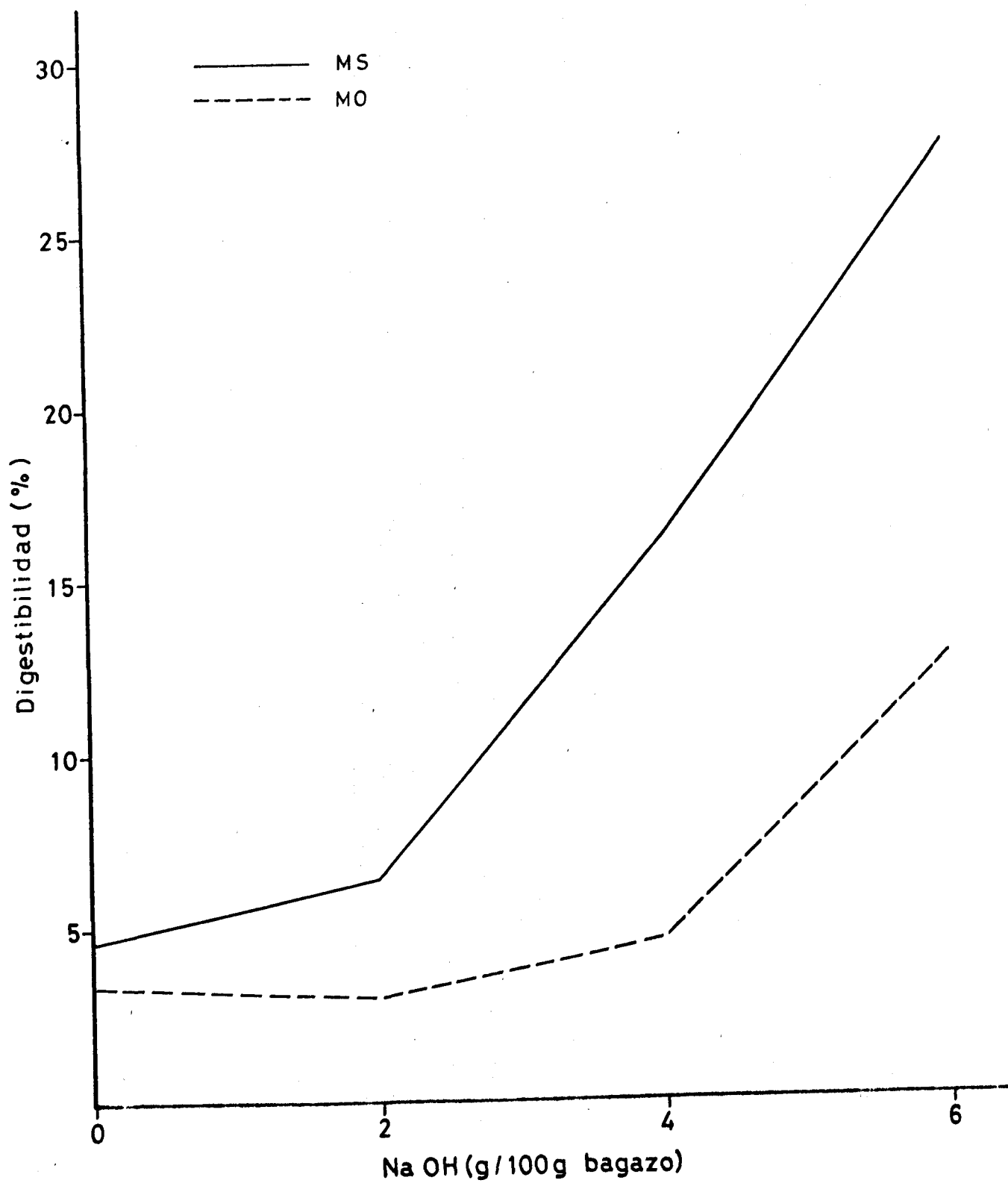
(NaOH g/100g bagazo<sup>(1)</sup>)

	0	2	4	6	Nivel de signi- ficación (2)
1.- Digestibilidad "in vitro"					
Materia seca	4,9 ± 0,82 <sup>a</sup>	6,7 ± 0,24 <sup>a</sup>	16,2 ± 1,00 <sup>b</sup>	27,6 ± 1,29 <sup>c</sup>	***
Materia orgánica	3,3 ± 0,50 <sup>a</sup>	3,0 ± 0,83 <sup>a</sup>	4,9 ± 0,48 <sup>a</sup>	12,8 ± 1,73 <sup>b</sup>	**
2.- Digestibilidad "en bolsa de nylon"					
Materia seca	6,6 ± 1,17 <sup>a</sup>	15,4 ± 0,62 <sup>b</sup>	27,6 ± 1,65 <sup>c</sup>	44,5 ± 1,17 <sup>d</sup>	***
Materia orgánica	6,8 ± 0,81 <sup>a</sup>	11,7 ± 0,40 <sup>a</sup>	24,0 ± 1,54 <sup>b</sup>	36,1 ± 1,65 <sup>c</sup>	***
FND	9,0 ± 0,82 <sup>a</sup>	14,1 ± 0,76 <sup>b</sup>	22,2 ± 1,71 <sup>c</sup>	27,3 ± 0,37 <sup>d</sup>	***
FAD	4,9 ± 0,51 <sup>a</sup>	7,6 ± 0,35 <sup>a</sup>	17,8 ± 3,02 <sup>b</sup>	36,1 ± 1,71 <sup>c</sup>	***
LAD	-13,0 ± 0,97 <sup>ab</sup>	-19,6 ± 1,40 <sup>a</sup>	-8,6 ± 1,15 <sup>b</sup>	12,0 ± 4,50 <sup>c</sup>	**

(1) MS >> 75%

(2) \*\*\* = P < .001; \*\* = P < .01. Efecto global del tratamiento

NOTA: Los valores afectados por la misma letra no difieren significativamente (P < .05)



Gráfica 5. Efecto del tratamiento alcalino sobre la digestibilidad "in vitro".

en la digestibilidad de la materia seca;  $P < .01$  y  $P < .05$ , para la materia orgánica). Las ecuaciones de regresión de la digestibilidad "in vitro" de la materia seca y de la materia orgánica sobre el nivel porcentual de NaOH in incorporado al bagazo son respectivamente:

$$y_1 = 3,838x + 2,478$$

$(r = 0,911, P < .001; S_b = 0,283; S_o = 3,99)$

$$Y_2 = 1,525x + 1,423$$

$(r = 0,740, P < .001; S_b = 0,439; S_o = 3,24)$

donde,

$y_1$  = digestibilidad "in vitro" de la materia seca (%)

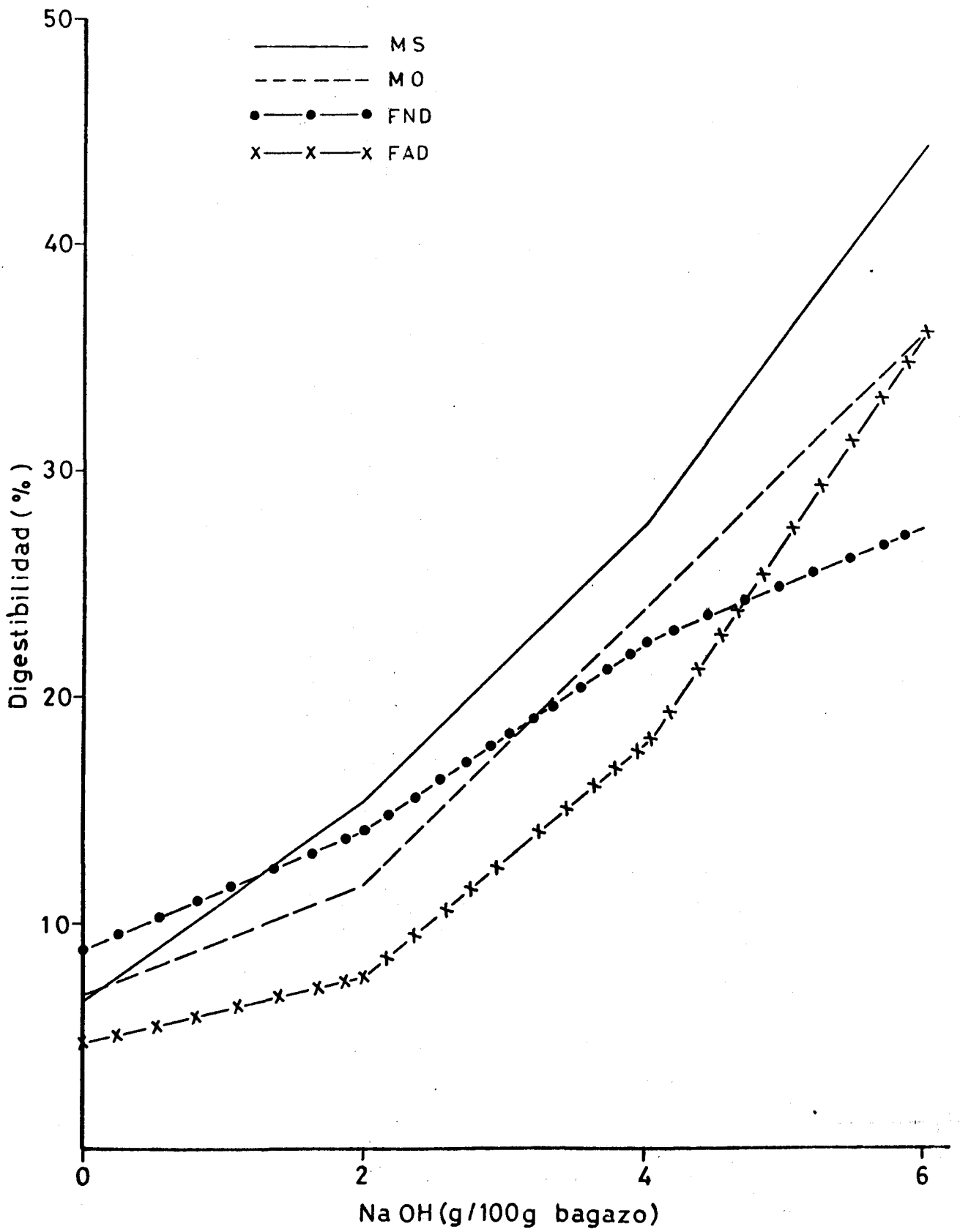
$y_2$  = digestibilidad "in vitro" de la materia orgánica (%)

$x$  = NaOH incorporado (g/100g bagazo)

Sobre los coeficientes de digestibilidad obtenidos según la técnica de "la bolsa de nylon" la aplicación del NaOH ejerce un efecto similar al descrito anteriormente para la digestibilidad "in vitro" (Gráfica 6). El aumento en los coeficientes de digestibilidad de la materia seca, materia orgánica, FND y FAD es altamente significativo ( $P < .001$ ), presentando menor significación el incremento producido en los coeficientes de digestibilidad de la fracción LAD ( $P < .01$ ).

Las componentes lineal y cuadrática del efecto concentración de álcali adquieren significación estadística ( $P < .001$ ) en todos los nutrientes estudiados, salvo en el caso de la digestibilidad de la FND para la que solo la componente lineal resulta significativa.





Gráfica 6. Efecto del tratamiento alcalino sobre la digestibilidad " en bolsa de nylon".

Las ecuaciones de regresión de la digestibilidad "en bolsa de nylon" para la materia seca y la materia orgánica del bagazo sobre la concentración de NaOH adicionado son respectivamente:

$$y' = 6,290x + 4,630$$

$$(r = 0,976, P < .001; S_b = 0,332; S_o = 3,33)$$

$$y'' = 5,010x + 4,602$$

$$(r = 0,963, P < .001; S_b = 0,333; S_o = 3,31)$$

donde,

$y'$  = digestibilidad "en bolsa de nylon" de la materia se  
ca (%)

$y''$  = digestibilidad "en bolsa de nylon" de la materia  
orgánica (%)

$x$  = NaOH incorporado (g/100g bagazo)

### 3) Experimento C

A lo largo de los ensayos de digestibilidad "in vivo" los animales muestran un comportamiento normal y ello se refleja en la magnitud de la variabilidad obtenida para los coeficientes medios de utilización de los distintos nutrientes considerados. Los coeficientes de variación correspondientes a la digestibilidad de materia seca, materia orgánica, FND, FAD, celulosa, materia orgánica del bagazo, SDN y nitrógeno, muestran valores comprendidos entre 6,41 y 12,16. En el caso de la digestibilidad de las fracciones LAD y hemicelulosas, así como en los resultados relativos a balance de nitrógeno, las va-

riaciones son muy superiores.

El coeficiente de variación observado en la ingesta de materia seca (15,83%) se encuentra dentro de las cifras normales en este tipo de ensayos.

Durante el período de adaptación a las dietas que incluyen bagazo de caña de azúcar no sometido a la acción del hidróxido sódico (ensayos OB<sub>1</sub>, OB<sub>2</sub>, OS<sub>1</sub> y OS<sub>2</sub>) dos de los animales experimentales de cada lote rehusan ingerir la ración, por lo que se retiran del ensayo. Esto mismo sucede con dos corderos en el ensayo 2S<sub>1</sub>. Todos estos animales se excluyen en las correspondientes tablas de resultados. Así mismo, durante la fase de recogida de los ensayos OS<sub>1</sub> y 6B<sub>2</sub>, un animal experimental de cada lote muestra síntomas de alteraciones digestivas con excreción de heces diarreicas, por lo que también se prescinde de ellos en el cálculo de los distintos parámetros estudiados.

En líneas generales, durante los ensayos de digestibilidad las ingestas de las raciones que contienen bagazo no tratado o adicionado de un 2% de NaOH son inadecuadas para evitar la pérdida de peso en los animales experimentales. Sin embargo, los niveles superiores de álcali originan consumos de alimento suficientes para atender a las necesidades de mantenimiento o, incluso, superarlas ligeramente. En términos generales, la utilización de las dietas que incluyen torta de soja es superior a la de aquellas en las que el biuret constituye la fuente de nitrógeno. Los datos de ingesta y excreción fecal y urinaria correspondiente figuran para ca-

da ensayo en la Tabla VIII y los coeficientes medios de digestibilidad de cada experiencia se recogen en la Tabla IX. Las Tablas X y XI muestran los niveles de significación estadística obtenidos para los efectos principales y sus correspondientes interacciones en cada parámetro estudiado. Los resultados del test de comparación de medias (t de Tukey) para los factores concentración de NaOH, nivel de nitrógeno y fuente nitrogenada en la dieta, para todas las variables consideradas se recogen en las Tablas XII, XIII y XIV.

Aunque no se cuantifica, la ingesta de agua aumenta rápidamente cuando los animales ingieren las raciones que contienen las concentraciones superiores de hidróxido sódico. Paralelamente, el volumen de excreción urinaria se eleva con el consumo de estas dietas y el contenido en agua de la excreción fecal tiende a aumentar.

Dado el gran paralelismo que se aprecia en la acción de los factores estudiados sobre los coeficientes de digestibilidad de la materia seca y sustancia orgánica de las dietas experimentales y de la digestibilidad calculada para la materia orgánica del bagazo se realiza conjuntamente la interpretación del tratamiento estadístico.

Los coeficientes de digestibilidad medios de las dietas que incluyen el bagazo no sometido a la acción del NaOH son 47,4 y 50,2, respectivamente, para la materia seca y materia orgánica, alcanzando las cifras de 66,5 y 68,0% con la máxima concentración de NaOH. Los coeficientes de utilización digestiva de la materia orgánica del

TABLA VIII.- INGESTA Y EXCRECION POR ANIMAL Y DIA CORRESPONDIENTES A LOS ENSAYOS DE DIGESTIBILIDAD "in vivo".

Animales	P <sup>0.75</sup> Kg	Ingesta, g MS/ Kg P <sup>0.75</sup>	Excreción fecal, g MS	Excreción urinaria, g
<u>Ensayo OB<sub>1</sub></u>				
1	16,719	30,9	255,03	612,89
2	17,519	25,3	232,98	549,43
3	16,351	19,4	197,46	306,14
4	15,002	29,2	240,30	357,00
<u>Ensayo OB<sub>2</sub></u>				
1	18,873	25,3	256,80	530,28
2	15,756	30,4	263,49	865,62
3	19,504	24,5	194,28	402,87
4	16,645	28,7	209,77	399,86
<u>Ensayo OS<sub>1</sub></u>				
1	18,093	38,8	289,06	561,00
2	17,519	36,5	358,79	1183,57
3	19,782	32,0	282,40	731,43
4	-	-	-	-
<u>Ensayo OS<sub>2</sub></u>				
1	16,645	31,9	307,04	820,77
2	18,944	28,0	306,13	1409,50
3	18,591	28,5	293,77	1829,00
4	16,645	31,9	339,12	1233,25

TABLA VIII.- INGESTA Y EXCRECION POR ANIMAL Y DIA CORRES  
(Cont.) PONDIENTES A LOS ENSAYOS DE DIGESTIBILIDAD  
"in vivo".

Animales	P <sup>0.75</sup> Kg	Ingesta, g MS/ Kg P <sup>0.75</sup>	Excreción fecal, g MS	Excreción urinaria, g
<u>Ensayo 2B<sub>1</sub></u>				
1	21,693	23,8	176,15	585,45
2	17,374	31,8	253,89	347,00
3	20,471	23,4	220,57	668,61
4	18,803	23,2	195,23	498,44
5	18,022	32,8	293,91	1453,20
6	19,782	35,4	288,54	381,45
<u>Ensayo 2B<sub>2</sub></u>				
1	19,014	33,5	250,97	524,50
2	16,054	39,7	268,40	356,88
3	14,390	44,3	278,85	621,22
4	19,782	32,2	279,14	988,11
5	16,938	37,6	257,93	1752,77
6	15,456	14,9	107,24	1375,22
<u>Ensayo 2S<sub>1</sub></u>				
1	21,153	31,5	300,20	2496,25
2	21,221	31,4	289,37	390,00
3	20,949	31,8	282,27	1024,00
4	22,694	26,6	253,02	741,00
5	-	-	-	-
6	-	-	-	-
<u>Ensayo 2S<sub>2</sub></u>				
1	16,865	53,3	337,64	1743,75
2	17,519	51,4	373,62	2047,50
3	16,645	54,1	406,29	1315,00
4	17,950	47,1	367,10	1830,00
5	20,058	44,9	353,23	1757,00
6	17,374	51,8	333,18	1106,00

TABLE VIII.- INGESTA Y EXCRECION POR ANIMAL Y DIA CORRESPONDIENTES A LOS ENSAYOS DE DIGESTIBILIDAD "in vivo".

Animales	P <sup>0.75</sup> Kg	Ingesta, g MS/ Kg P <sup>0.75</sup>	Excreción fecal, g MS	Excreción urinaria, g
<u>Ensayo 4B<sub>1</sub></u>				
1	16,277	39,5	222,22	317,37
2	14,850	43,3	240,74	885,60
3	17,374	41,1	277,78	941,33
4	19,643	32,7	244,53	871,33
5	17,229	37,3	215,52	1846,40
6	20,608	11,5	93,93	1461,70
<u>Ensayo 4B<sub>2</sub></u>				
1	15,980	45,1	284,48	767,20
2	14,080	51,2	276,93	1157,90
3	15,905	45,3	272,76	1997,22
4	18,520	38,9	271,97	957,75
5	19,782	36,4	262,46	1770,50
6	17,084	42,2	254,38	1832,30
<u>Ensayo 4S<sub>1</sub></u>				
1	18,022	51,3	342,08	1776,00
2	18,022	51,3	339,28	2669,00
3	17,879	51,7	311,36	2036,00
4	16,938	54,6	363,24	2405,00
5	21,491	43,1	358,78	2153,00
6	18,662	45,0	346,36	2240,00
<u>Ensayo 4S<sub>2</sub></u>				
1	17,879	52,2	342,56	1029,80
2	17,950	52,7	308,51	2349,00
3	17,229	54,9	359,20	2349,00
4	16,351	57,8	355,48	1915,80
5	20,334	46,5	367,24	2078,00
6	17,519	45,8	307,44	2144,40

TABLA VIII.- INGESTA Y EXCRECION POR ANIMAL Y DIA CORRES  
(Cont.) PONDIENTES A LOS ENSAYOS DE DIGESTIBILIDAD  
"in vivo".

Animales	P <sup>0.75</sup> Kg	Ingesta, g MS/ Kg P <sup>0.75</sup>	Excreción fecal, g MS	Excreción urinaria, g
<u>Ensayo 6B<sub>1</sub></u>				
1	19,782	25,7	162,31	893,00
2	15,980	32,8	167,40	1156,75
3	17,084	42,5	228,76	1726,55
4	17,084	21,2	142,98	920,11
5	16,425	30,6	241,65	2275,55
6	19,014	26,3	144,47	579,00
<u>Ensayo 6B<sub>2</sub></u>				
1	19,434	34,3	217,10	1395,44
2	15,831	42,1	239,11	1565,55
3	16,054	41,5	218,06	2698,33
4	18,449	28,9	199,35	1250,00
5	16,938	39,3	217,42	2782,77
6	-	-	-	-
<u>Ensayo 6S<sub>1</sub></u>				
1	18,236	49,3	267,22	3295,00
2	17,807	50,5	252,03	3295,00
3	16,938	53,1	278,24	2456,43
4	17,663	50,9	235,96	3409,29
5	20,608	43,6	242,80	3932,14
6	17,519	51,3	245,32	3056,29
<u>Ensayo 6S<sub>2</sub></u>				
1	17,302	46,2	286,90	3568,75
2	17,374	46,1	308,63	3516,86
3	16,645	48,1	302,58	2808,13
4	17,519	45,7	286,60	4163,75
5	20,058	39,9	285,09	2876,88
6	17,374	46,1	277,95	2409,50



TABLA IX.- COEFCIENTES DE DIGESTIBILIDAD MEDIOS "IN VIVO"

Ensayo	OB <sub>1</sub>	OB <sub>2</sub>	OS <sub>1</sub>	OS <sub>2</sub>
Materia seca	45,3±2,76	51,7±3,58	52,7±4,51	41,3±1,84
Materia orgánica	47,4±3,09	53,7±3,34	56,4±3,51	44,8±1,54
FND	37,0±3,77	42,5±3,73	49,4±4,03	35,1±1,73
SDN	58,6±1,60	66,0±3,89	58,8±8,62	52,8±4,43
FAD	39,6±3,64	42,5±3,82	50,6±3,57	31,2±2,04
LAD	25,1±4,52	24,3±4,79	30,0±3,22	22,6±6,32
Hemicelulosa	31,4±4,14	42,3±3,60	46,8±5,21	43,4±1,99
Celulosa	42,6±3,48	47,1±3,68	54,2±3,70	33,0±1,36

Ensayo	2B <sub>1</sub>	2B <sub>2</sub>	2S <sub>1</sub>	2S <sub>2</sub>
Materia seca	56,4±2,22	57,3±1,06	56,8±0,68	59,4±1,34
Materia orgánica	59,3±2,20	61,0±0,93	60,1±0,87	62,5±1,40
FND	51,8±3,86	54,7±1,60	53,4±1,67	58,7±1,97
SDN	66,9±1,65	60,6±2,15	62,5±1,06	60,7±1,15
FAD	46,3±4,06	47,2±2,28	50,5±1,24	58,0±2,04
LAD	24,8±5,59	4,4±5,18	33,9±2,53	40,9±1,88
Hemicelulosa	47,2±3,74	79,3±2,78	60,0±2,95	60,0±2,34
Celulosa	54,6±2,02	56,8±2,20	54,2±1,68	61,6±2,34

TABLA IX.- COEFICIENTES DE DIGESTIBILIDAD MEDIOS "IN VIVO"  
(Cont.)

Ensayo	4B <sub>1</sub>	4B <sub>2</sub>	4S <sub>1</sub>	4S <sub>2</sub>
Materia seca	62,9±1,00	62,5±0,61	62,2±1,08	63,1±0,94
Materia orgánica	63,7±0,96	65,2±0,87	64,6±1,28	65,9±0,83
FND	61,7±2,26	60,6±1,97	61,9±1,54	65,0±1,33
SDN	65,8±2,10	65,8±2,28	62,8±0,89	60,2±0,82
FAD	57,5±1,75	58,2±0,78	62,4±1,36	65,0±1,14
LAD	9,5±5,04	31,6±3,95	35,7±2,74	35,2±2,55
Hemicelulosa	74,1±4,05	67,7±7,10	59,9±2,62	65,0±2,24
Celulosa	65,5±2,28	63,3±1,16	67,4±1,22	69,8±1,07

Ensayo	6B <sub>1</sub>	6B <sub>2</sub>	6S <sub>1</sub>	6S <sub>2</sub>
Materia seca	64,8±2,93	65,8±1,01	71,8±0,73	63,6±0,60
Materia orgánica	65,6±3,06	67,4±0,99	74,5±0,75	64,5±0,71
FND	61,6±3,23	66,9±1,35	74,5±1,36	65,9±1,30
SDN	67,4±3,21	64,6±0,82	69,1±0,44	61,5±1,10
FAD	45,9±3,39	59,1±1,66	69,3±0,98	52,5±3,27
LAD	-38,6±12,00	-5,9±6,02	2,1±4,32	-33,1±5,88
Hemicelulosa	130±11,13	115,5±7,30	104,7±4,38	187,3±21,11
Celulosa	62,5±2,20	69,7±1,44	78,3±1,34	67,2±3,34

TABLA IX.- COEFICIENTES DE DIGESTIBILIDAD MEDIOS DE LA  
(Cont.) MATERIA ORGANICA DEL BAGAZO DE CAÑA DE AZUCAR

<u>Ensayos</u>	
OB <sub>1</sub>	27,4 ± 4,54
OB <sub>2</sub>	37,7 ± 4,80
OS <sub>1</sub>	42,6 ± 4,96
OS <sub>2</sub>	25,1 ± 2,21
2B <sub>1</sub>	46,8 ± 3,08
2B <sub>2</sub>	46,1 ± 1,39
2S <sub>1</sub>	46,3 ± 1,29
2S <sub>2</sub>	50,6 ± 2,01
4B <sub>1</sub>	52,1 ± 1,38
4B <sub>2</sub>	54,3 ± 1,25
4S <sub>1</sub>	53,8 ± 1,82
4S <sub>2</sub>	57,5 ± 1,30
6B <sub>1</sub>	54,6 ± 4,44
6B <sub>2</sub>	55,3 ± 1,53
6S <sub>1</sub>	67,2 ± 1,10
6S <sub>2</sub>	49,7 ± 1,13

TABLA IX (Cont.).- VALORES MEDIOS CORRESPONDIENTES AL BALANCE DE NITROGENO

Ensayo	N ingerido, g/Kg P <sup>0.75</sup>	N absorbido %	N retenido, mg/Kg P <sup>0.75</sup>	N retenido,%	EUA
OB <sub>1</sub>	0,46±0,04	59,5±3,94	-205,85±26,27	-19,9±23,09	-81,5±20,63
OB <sub>2</sub>	0,61±0,03	71,1±2,37	- 33,58±59,68	- 4,2±9,29	- 7,0±13,91
OS <sub>1</sub>	0,55±0,03	61,4±6,25	-125,13±64,72	-21,4±11,10	-38,7±20,40
OS <sub>2</sub>	0,61±0,02	61,1±2,37	- 95,28±72,62	-14,9±11,25	-25,3±18,83
2B <sub>1</sub>	0,46±0,04	59,9±2,68	19,38±33,03	4,3±6,76	5,4±11,50
2B <sub>2</sub>	0,79±0,10	66,7±4,25	60,70±28,80	5,0±5,09	18,6±5,11
2S <sub>1</sub>	0,49±0,02	62,8±1,33	4,25±35,62	0,1±7,51	- 0,4±10,23
2S <sub>2</sub>	0,96±0,03	66,9±1,53	91,07±28,02	9,5±2,87	13,9±4,24
4B <sub>1</sub>	0,59±0,08	64,1±1,83	201,90±51,69	28,8±8,98	43,3±14,24
4B <sub>2</sub>	0,90±0,05	70,1±2,09	97,37±26,57	10,3±2,57	14,5±3,65
4S <sub>1</sub>	0,75±0,03	58,6±0,67	23,18±34,24	2,9±4,62	3,7±8,33
4S <sub>2</sub>	0,97±0,04	65,1±1,09	22,32±24,53	2,1±2,49	3,4±3,86
6B <sub>1</sub>	0,54±0,05	62,8±3,39	83,72±39,10	14,4±6,33	20,3±9,89
6B <sub>2</sub>	0,84±0,05	69,2±1,14	79,64±17,92	9,1±1,91	13,2±2,85
6S <sub>1</sub>	0,79±0,02	62,5±1,16	125,83±20,63	15,8±2,42	25,3±3,96
6S <sub>2</sub>	0,98±0,03	65,3±1,31	105,87±27,14	10,8±2,69	16,7±4,42

TABLA X.- NIVEL DE SIGNIFICACION <sup>(a)</sup> ENCONTRADO PARA LAS DISTINTAS FUENTES DE VARIACION RELATIVAS A LA INGESTA Y COEFICIENTES DE DIGESTIBILIDAD

	Ingesta g/KgP.75	M.S.	M.O.	FND	FAD	Hemice- lulosa	Celulosa	M.O. Ba- gazo	SDN	LAD
[NaOH] (1)	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***
Componente lineal	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***
Componente cuadrá- tica	***	***	***	***	***	***	***	***	NS	***
Componente cúbica	**	NS	NS	NS	*	***	NS	NS	NS	***
Nivel N (2)	***	NS	NS	NS	NS	***	NS	NS	*	NS
Fuente N (3)	***	NS	NS	**	***	NS	**	NS	**	***
(1) x (2)	***	NS	*	*	**	*	***	**	NS	NS
(1) x (3)	NS	NS	NS	NS	*	*	NS	NS	NS	*
(2) x (3)	NS	***	***	**	***	*	***	***	NS	**
(1) x (2) x (3)	**	***	***	***	***	***	***	***	*	***
S <sub>0</sub> <sup>2</sup>	35,58	15,54	15,34	29,29	40,37	335,30	25,23	32,12	27,01	165,89

(a) \*\*\* = P < .001; \*\* = P < .01; \* = P < .05; NS = No significativo

TABLA XI.- NIVEL DE SIGNIFICACION (a) ENCONTRADO PARA LAS DISTINTAS FUENTES DE VARIACION RELATIVAS AL BALANCE DE NITROGENO

	N absorbido %	N retenido %	N reterido mg/Kg P <sub>0.75</sub>	EUA
NaOH (1)	NS	***	***	***
Componente lineal	NS	***	***	***
Componente cuadrática	NS	***	***	***
Componente cúbica	NS	NS	NS	NS
Nivel N (2)	***	NS	NS	NS
Fuente N (3)	*	NS	NS	NS
(1) x (2)	NS	***	**	***
(1) x (3)	NS	*	**	*
(2) x (3)	NS	NS	NS	NS
(1) x (2) x (3)	NS	**	NS	**
S <sub>0</sub> <sup>2</sup>	31,54	175,61	7034,45	504,65

(a) \*\*\* = P < .001; \*\* = P < .01; \* = P < .05; NS = No significativo

TABLA XII.- RESULTADOS MEDIOS PARA INGESTA, DIGESTIBILIDAD DE DISTINTOS NUTRIENTES Y BALANCE DE NITROGENO DERIVADOS DEL TRATAMIENTO ALCALINO.

NaOH (g/100g bagazo <sup>(1)</sup> )	0	2	4	6
Ingesta MS, g/Kg P <sup>0.75</sup>	29,4 ± 1,24 <sup>a</sup>	36,2 ± 2,33 <sup>b</sup>	44,6 ± 1,97 <sup>c</sup>	40,7 ± 1,93 <sup>c</sup>
Materia seca	47,4 ± 1,87 <sup>a</sup>	57,5 ± 0,77 <sup>b</sup>	62,7 ± 0,44 <sup>c</sup>	66,5 ± 1,04 <sup>d</sup>
Materia orgánica	50,2 ± 1,78 <sup>a</sup>	60,8 ± 0,77 <sup>b</sup>	64,8 ± 0,49 <sup>c</sup>	68,0 ± 1,17 <sup>d</sup>
FND	40,4 ± 2,06 <sup>a</sup>	54,7 ± 1,33 <sup>b</sup>	62,2 ± 0,91 <sup>c</sup>	67,2 ± 1,39 <sup>d</sup>
FAD	40,9 ± 2,41 <sup>a</sup>	50,5 ± 1,68 <sup>b</sup>	60,8 ± 0,89 <sup>c</sup>	56,6 ± 2,24 <sup>c</sup>
Hemicelulosa	40,6 ± 2,26 <sup>a</sup>	61,6 ± 3,01 <sup>b</sup>	66,7 ± 2,32 <sup>b</sup>	135,3 ± 9,18 <sup>c</sup>
Celulosa	43,6 ± 2,42 <sup>a</sup>	56,9 ± 1,19 <sup>b</sup>	66,5 ± 0,86 <sup>c</sup>	69,4 ± 1,64 <sup>c</sup>
Materia orgánica bagazo	32,6 ± 2,65 <sup>a</sup>	47,6 ± 1,11 <sup>b</sup>	54,4 ± 0,79 <sup>c</sup>	56,8 ± 1,84 <sup>c</sup>
SDN	59,1 ± 2,44 <sup>a</sup>	62,7 ± 0,96 <sup>ab</sup>	63,6 ± 0,92 <sup>b</sup>	65,6 ± 1,05 <sup>b</sup>
LAD	25,2 ± 2,36 <sup>a</sup>	25,3 ± 3,69 <sup>a</sup>	28,0 ± 2,84 <sup>a</sup>	-18,9 ± 5,01 <sup>b</sup>
N absorbido (%)	63,4 ± 2,06 <sup>a</sup>	64,2 ± 1,51 <sup>a</sup>	64,4 ± 1,11 <sup>a</sup>	64,8 ± 1,11 <sup>a</sup>
N retenido, mg/Kg P <sup>0.75</sup>	-114,2 ± 30,94 <sup>a</sup>	47,5 ± 16,19 <sup>b</sup>	86,2 ± 22,68 <sup>b</sup>	98,8 ± 13,42 <sup>b</sup>
N retenido (%)	-20,9 ± 5,78 <sup>a</sup>	5,2 ± 2,67 <sup>b</sup>	10,9 ± 3,38 <sup>b</sup>	12,6 ± 1,90 <sup>b</sup>
EUA	-38,0 ± 11,17 <sup>a</sup>	10,2 ± 4,18 <sup>b</sup>	16,2 ± 5,28 <sup>b</sup>	19,1 ± 3,01 <sup>b</sup>

(1) MS ≥ 75%

NOTA: Los valores afectados por la misma letra no difieren significativamente (P < .05)

TABLA XIII.- RESULTADOS MEDIOS PARA INGESTA, DIGESTIBILIDAD DE ALGUNOS NUTRIENTES Y BALANCE DE NITROGENO DERIVADOS DEL NIVEL DE NITROGENO EN LA DIETA

	Nivel 1	Nivel 2
Ingesta MS, g/Kg P <sup>0.75</sup>	36,2 ± 1,70 <sup>a</sup>	40,9 ± 1,49 <sup>b</sup>
Materia seca	60,4 ± 1,33 <sup>a</sup>	50,9 ± 1,15 <sup>a</sup>
Materia orgánica	62,6 ± 1,30 <sup>a</sup>	61,5 ± 1,08 <sup>a</sup>
FND	58,0 ± 1,84 <sup>a</sup>	57,5 ± 1,64 <sup>a</sup>
FAD	53,9 ± 1,69 <sup>a</sup>	52,9 ± 1,64 <sup>a</sup>
Hemicelulosa	73,4 ± 5,31 <sup>a</sup>	85,5 ± 7,68 <sup>b</sup>
Celulosa	61,4 ± 1,73 <sup>a</sup>	60,0 ± 1,79 <sup>a</sup>
Materia orgánica bagazo	50,5 ± 1,89 <sup>a</sup>	48,3 ± 1,55 <sup>a</sup>
SDN	64,7 ± 0,97 <sup>a</sup>	61,6 ± 0,88 <sup>b</sup>
LAD	12,9 ± 4,36 <sup>a</sup>	14,8 ± 4,04 <sup>a</sup>
Nitrógeno absorbido (%)	61,5 ± 0,89 <sup>a</sup>	66,9 ± 0,86 <sup>b</sup>
Nitrógeno retenido, mg/Kg P <sup>0.75</sup>	37,6 ± 22,11 <sup>a</sup>	49,9 ± 14,63 <sup>a</sup>
Nitrógeno retenido (%)	4,3 ± 3,87 <sup>a</sup>	4,5 ± 1,94 <sup>a</sup>
EUA	3,5 ± 6,68 <sup>a</sup>	7,9 ± 3,04 <sup>a</sup>

NOTA: Los valores afectados por la misma letra no difieren significativamente (P < .05)



TABLA XIV.- RESULTADOS MEDIOS PARA INGESTA, DIGESTIBILIDAD DE ALGUNOS NUTRIENTES Y BALANCE DE NITROGENO DERIVADOS DE LA FUENTE NITROGENADA DE LA DIETA.

	Biuret	Soja.
Ingesta MS, g/Kg P <sup>0.75</sup>	32,9 ± 1,34 <sup>a</sup>	43,9 ± 1,55 <sup>b</sup>
Materia seca	59,1 ± 1,15 <sup>a</sup>	60,3 ± 1,34 <sup>a</sup>
Materia orgánica	61,2 ± 0,15 <sup>a</sup>	62,9 ± 1,27 <sup>a</sup>
FND	55,7 ± 1,65 <sup>a</sup>	59,9 ± 1,78 <sup>b</sup>
FAD	50,3 ± 1,38 <sup>a</sup>	56,6 ± 1,79 <sup>b</sup>
Hemicelulosa	76,0 ± 5,32 <sup>a</sup>	83,3 ± 7,95 <sup>a</sup>
Celulosa	58,7 ± 1,44 <sup>a</sup>	62,9 ± 2,03 <sup>b</sup>
Materia orgánica bagazo	47,9 ± 1,60 <sup>a</sup>	50,9 ± 1,82 <sup>a</sup>
SDN	64,7 ± 0,88 <sup>a</sup>	61,5 ± 0,96 <sup>b</sup>
LAD	8,3 ± 4,07 <sup>a</sup>	19,5 ± 4,15 <sup>b</sup>
Nitrógeno absorbido (%)	65,4 ± 1,14 <sup>a</sup>	63,2 ± 0,71 <sup>a</sup>
Nitrógeno retenido, mg/Kg P <sup>0.75</sup>	51,6 ± 19,97 <sup>a</sup>	35,9 ± 16,83 <sup>a</sup>
Nitrógeno retenido (%)	5,4 ± 3,44 <sup>a</sup>	2,9 ± 2,36 <sup>a</sup>
EUA	7,6 ± 5,90 <sup>a</sup>	3,9 ± 3,90 <sup>a</sup>

NOTA: Los valores afectados por la misma letra no difieren significativamente (P < .05)

bagazo se calculan a partir de los datos anteriores, admitiendo que la digestibilidad de la fracción restante - permanece constante (90%) en las distintas dietas experimentales, y oscilan entre 32,6% para el bagazo no tratado y 56,8% a la máxima concentración de NaOH ensayada - (6%). El estudio estadístico pone de manifiesto la importancia del factor concentración de NaOH ( $P < .001$ ), cuyas componentes lineal y cuadrática ( $P < .001$ ) demuestran el aumento en la utilización digestiva de la dieta al elevarse la intensidad del álcali, así como la tendencia de aquél a declinar con el nivel superior de adición de hidróxido sódico. No aparecen diferencias estadísticamente apreciables para los efectos del nivel de nitrógeno y de la fuente de este nutriente.

En el caso de la digestibilidad de la materia orgánica de la dieta y del bagazo se pone de manifiesto una interacción [NaOH] x Nivel de N ( $P < .05$  y  $P < .01$ , - respectivamente), provocada por la inversión en el efecto del nivel de nitrógeno con la concentración superior de álcali.

La interacción Nivel de N x Fuente de N ( $P < .001$ ) y la interacción triple ( $P < .001$ ) indican la necesidad de definir la combinación de factores y de matizar la generalización de los efectos de tratamientos aislados.

Los coeficientes de digestibilidad medios de la fracción FND se encuentran comprendidos entre los valores 40,4 y 67,2%, que corresponden, respectivamente, a los niveles mínimo y máximo de concentración de NaOH. El efecto del tratamiento alcalino ( $P < .001$ ), cuyas componen



tes lineal y cuadrática ( $P < .001$ ) nos indican un aumento en el coeficiente de digestibilidad de esta fracción, -- se mitiga al elevarse la concentración de NaOH en el bagazo.

El origen de la fuente nitrogenada determina diferencias estadísticamente válidas ( $P < .01$ ) en la -- utilización digestiva de esta fracción. Las interacciones existentes: [NaOH] x Nivel de N, Nivel de N x Fuente de N y [NaOH] x Nivel N x Fuente N, sugieren una -- vez más la no idoneidad de la extrapolación de los resultados sin tener en cuenta todas las combinaciones que -- aparecen en estos ensayos.

La utilización digestiva de la fracción FAD -- muestra un comportamiento muy semejante al ya descrito para la FND. Hay que destacar, sin embargo, dos diferencias con respecto a aquella: a) la aparición de una componente cúbica estadísticamente válida ( $P < .05$ ) e indicativa de una inversión del efecto (NaOH) con el nivel máximo de aplicación; b) la existencia de una interacción (NaOH) x Fuente de N.

La fracción de hemicelulosa se obtiene como diferencia entre los valores porcentuales correspondientes a la FND y FAD. Con el nivel máximo de NaOH esta última fracción es mayor que la primera, por lo que el coeficiente de utilización digestiva medio para la hemicelulosa supera en este caso el valor 100. Con las tres dosis inferiores de aplicación del NaOH los coeficientes de digestibilidad se encuentran dentro del intervalo 40,6 y 66,7%.

Tanto el factor [NaOH] como el nivel de nitrógeno producen diferencias estadísticamente válidas en la utilización digestiva de las hemicelulosas ( $P < .001$ ). Todas las componentes ortogonales del factor [NaOH] adquieren significación estadística. Es claro que se produce una meseta con las aplicaciones intermedias de --- NaOH y un drástico aumento en el coeficiente de digestibilidad a la concentración máxima del álcali. Tanto las interacciones de segundo como de tercer orden producen diferencias apreciables desde el punto de vista estadístico y, consecuentemente, matizan la interpretación de los resultados derivados de factores aislados.

El estudio de la digestibilidad de la fracción de celulosa de la dieta, cuyos coeficientes mínimo y máximo son 43,6 y 69,4%, revela gran analogía con respecto a la fracción anterior, en cuanto al efecto [NaOH] y -- efecto interacciones de segundo y tercer orden. Sin embargo, es obligado destacar importantes diferencias: la ausencia de significación del factor nivel de N; la importancia de la fuente nitrogenada y, finalmente, la falta de validez estadística en la componente cúbica del factor [NaOH]. Con respecto a esta última peculiaridad, el aumento del coeficiente de utilización con niveles crecientes de NaOH en el bagazo se reduce al aumentar dicha concentración, aunque sin llegar a invertir el resultado, como ocurre en el caso anterior.

Los coeficientes de utilización digestiva de la fracción SDN se encuentran situados en el rango de 59,1 y 65,5%. Cuantitativamente las diferencias son po

co importantes, si bien los efectos ( $\overline{\text{NaOH}}$ ), nivel de N y fuente nitrogenada son estadísticamente significativos ( $P < .001$ ,  $P < .05$  y  $P < .01$ , respectivamente). La componente lineal ( $P < .001$ ) explica toda la varianza del efecto ( $\overline{\text{NaOH}}$ ). Existe una interacción triple ( $P < .05$ ) que matiza la interpretación de los resultados.

En lo que respecta a los coeficientes de digestibilidad de la fracción LAD, los valores medios correspondientes a las concentraciones 0, 2 ó 4% de NaOH se agrupan en la proximidad del 26%. Con la mayor intensidad de aplicación del álcali (6%) se obtiene un coeficiente de digestibilidad negativo. El tratamiento alcalino y la fuente de N inducen diferencias significativas ( $P < .001$ ), aunque de signo opuesto, dado que este último factor induce aparentemente una mayor utilización digestiva de esta fracción. La absorción aparente del nitrógeno de las dietas, que presenta valores próximos al 64%, no se modifica por la influencia de las distintas concentraciones del álcali y sí lo hace con carácter significativo para el nivel y la fuente nitrogenada ( $P < .001$  y  $P < .05$ , respectivamente). Conviene señalar la ausencia de significación estadística para las interacciones de segundo y tercer orden.

Las tres variables que definen la utilización metabólica del nitrógeno de la dieta: retención absoluta de nitrógeno ( $\text{mg N/Kg P}^{0.75}$ ), retención porcentual de nitrógeno con respecto a su ingesta y eficiencia de utilización del nitrógeno absorbido, se afectan de forma paralela y favorablemente por la presencia de álcali --- ( $P < .001$ ).

Los coeficientes de utilización no muestran diferencias imputables a la fuente ni al nivel de nitrógeno en la ración. El efecto del factor (NaOH) en el caso de las retenciones absoluta y porcentual de nitrógeno se explica por sus componentes lineal y cuadrática ( $P < .001$ ). En el caso de la EUA, el componente cúbico es así mismo significativo ( $P < .001$ ). Dado que los niveles de N ensayados están muy próximos al mantenimiento, aparecen datos de balance de nitrógeno tanto positivos como negativos, lo que introduce una gran variabilidad en los resultados. Con las tres variables son significativas las interacciones (NaOH) x Nivel de N, (NaOH) x Fuente de N y la interacción de tercer orden.

El tratamiento estadístico de los datos individuales de ingesta ( $\text{g MS/Kg P}^{0.75}$ ) indica que los valores derivados de la adición de álcali así como del nivel y origen del nitrógeno en la dieta son diferentes ( $P < .001$ ). Aparece una interacción (NaOH) x Nivel de N ( $P < .001$ ). En efecto, se observa una convergencia de los datos para las concentraciones extremas de tratamiento alcalino y una clara diferencia en los valores correspondientes a concentraciones medias de la base.

La interacción triple ( $P < .01$ ) subraya la importancia de definir la combinación de los tres factores estudiados. Baste citar que la combinación  $SN_2$  cuando la cantidad de álcali añadido es del 2% alcanza un máximo valor para la ingesta, muy separado de las restantes combinaciones con esta misma concentración de álcali. La descomposición ortogonal del factor tratamiento alcalino revela la significación estadística ( $P < .001$ ) de las com

ponentes lineal, y cuadrática y cúbica, reflejando la mayor proximidad en los valores de ingesta correspondientes a los niveles 0 y 2% y un aumento para el 4%, seguido de un cierto declive a la máxima concentración de álcali.

La Tabla XV, recoge los resultados correspondientes al ensayo de ingesta con animales alojados en grupo. Se aprecia un incremento en el consumo voluntario medio del lote con niveles crecientes de NaOH en el bagazo de caña de azúcar. No obstante, los lotes que consumen la ración que contiene bagazo tratado con un 4% de NaOH muestran una importante reducción en la ingesta voluntaria. Este bagazo tratado al 4% procede en gran parte de la porción más baja del correspondiente silo, cuyo contenido muestra mayor porcentaje de agua y características organolépticas, distintas a las del resto del ensilado, que le confieren menor calidad.

El tratamiento estadístico de todos los datos de ingesta revela que, tanto el tratamiento alcalino como la fuente de nitrógeno y el agrupamiento de los animales afectan significativamente al consumo voluntario de la dieta ( $P < .01$ ;  $P < .01$  y  $P < .001$ , respectivamente). Existe una interacción ( $\bar{NaOH}$ ) x (Grupos) ( $P < .05$ ) imputable a la inversión que sufre la tendencia en el consumo de alimento con la ración que contiene bagazo con 4% de NaOH (Tabla XVI).

En la Tabla XVII, que recoge los resultados de la aplicación del test de la t de Tukey, se aprecia que las ingestas voluntarias medias son significativamente mayores cuando se incorpora álcali, se suministra

TABLA XV.- INGESTA VOLUNTARIA g MS/Kg P<sup>0.75</sup> DE CORDEROS ALOJADOS EN GRUPO

Tratamientos	OB <sub>2</sub>	OS <sub>2</sub>	2B <sub>2</sub>	2S <sub>2</sub>	4B <sub>2</sub>	4S <sub>2</sub>	6B <sub>2</sub>	6S <sub>2</sub>
Bagazo	24,5	39,9	35,6	39,9	27,6	36,5	43,3	50,8
Dieta completa	40,4	59,1	50,3	55,9	44,8	52,5	62,1	71,8



TABLA XVI.- NIVELES DE SIGNIFICACION (a) ENCONTRADOS EN EL ESTUDIO COMPARATIVO DE LOS DATOS DE INGESTA PARA LAS DISTINTAS FUENTES DE VARIACION

<u>Fuentes de variación</u>	<u>Ingesta MS, g/Kg P<sup>0.75</sup></u>
Efecto (NaOH)(1)	**
Fuente N (2)	**
Grupos (3)	***
(1) x (3)	*
S <sub>o</sub> <sup>2</sup>	14,70

(a) \*\*\* = P < .001; \*\* = P < .01; \* = P < .05

TABLA XVII.- RESULTADOS MEDIOS PARA INGESTA DERIVADOS DEL TRATAMIENTO ALCALINO,  
FUENTE NITROGENADA Y AGRUPAMIENTO DE LOS ANIMALES

g NaOH/100g bagazo			
0	2	4	6
39,2 ± 6,25 <sup>a</sup>	47,6 ± 4,16 <sup>ab</sup>	48,1 ± 2,05 <sup>b</sup>	54,1 ± 6,79 <sup>b</sup>
Fuente de nitrógeno			
B			S
42,4 ± 3,52 <sup>a</sup>			52,1 ± 3,92 <sup>b</sup>
Agrupamiento			
Aislados		Grupos	
39,9 ± 3,04 <sup>a</sup>		54,6 ± 3,29 <sup>b</sup>	

NOTA: En cada línea los datos afectados por la misma letra no difieren entre sí significativamente (P < .05)

torta de soja como fuente nitrogenada o los animales per  
manecen agrupados en el lote.

## 5.- DISCUSION DE LOS RESULTADOS

## 5.- DISCUSION DE LOS RESULTADOS

El estudio de la composición nutritiva del bagazo de caña de azúcar utilizado en los distintos ensayos que comprende esta Memoria revela un contenido muy bajo en proteína y carbohidratos solubles, así como gran riqueza en materiales de la pared celular. Los valores porcentuales son muy próximos a los obtenidos por otros autores (Randel, 1972; Sharma, 1974; Marshall y van Horn, 1975) e indican que su valor nutritivo es inferior al de otros productos de naturaleza fibrosa, tales como las pajas de cereales, y próximo al de subproductos como zuros de maíz, cascarilla de arroz, etc.

La comparación entre los datos analíticos correspondientes al esquema de análisis de van Soest y del sistema Weende pone de manifiesto la existencia en este último de serias limitaciones en la identificación química y cuantificación de los componentes de las distintas fracciones. Este último sistema incluye en las MELN, junto a los carbohidratos solubles, compuestos parcialmente disponibles desde el punto de vista nutritivo, como son hemicelulosas y celulosa, o incluso de ningún valor nutritivo, como la lignina. Es por ello que el porcentaje de fibra bruta supone tan solo el 50% de la fracción - FND. El porcentaje de carbohidratos solubles -igual o inferior a la diferencia entre solubles en detergente neutro y la suma de los contenidos en proteína bruta y extracto etéreo- no supera, de acuerdo con el sistema van Soest, el 2,25% de la materia seca del bagazo, es decir, constituye únicamente un 5% de las MELN. El proceso de extracción industrial a que se somete la caña de azúcar

limita drásticamente el contenido en carbohidratos solubles en el bagazo, por lo que evidentemente no parece lógica la cifra media del 44,47% que refleja la Tabla I - para aquella fracción.

Los resultados de la Tabla II relativos a la - composición analítica del bagazo de caña de azúcar sometido a la acción del NaOH, que se aplica como solución - pulverizada a concentraciones crecientes, y posteriormente ensilado durante un período de tres meses, requieren - un detallado análisis.

El descenso del contenido en constituyentes de la pared celular (FND) que experimenta el bagazo con concentraciones crecientes de NaOH aparece recogido en la - bibliografía para tratamientos alcalinos de material fibroso (Jones y Klopfenstein, 1967; Ololade y colaboradores, 1971; Klopfenstein y colaboradores, 1972; Anderson y Ralston, 1973; Thomsen y colaboradores, 1973; Gharib y colaboradores, 1975a y b; Summers y Sherrod, 1975; Yu y colaboradores, 1975; Rexen y Thomsen, 1976; Braman y Abe, 1977; Jackson, 1977; Wilkinson y González Santillana, 1978a; Fernández y González, 1979; Arndt y colaboradores, 1980). Dado que la fracción FAD no experimenta ninguna variación significativa derivada del tratamiento con álcali, el descenso que se opera en el contenido en paredes celulares debe atribuirse a la disolución de las hemicelulosas. No obstante, ha de tenerse en cuenta que a la reducción de la FND contribuye la ligera disminución, significativa desde el punto de vista estadístico, que experimenta con el tratamiento alcalino la fracción de LAD. Resultados análogos o una ligera solubili-

zación en la FAD, han obtenido Ololade y colaboradores (1970); Thomsen y colaboradores (1973); Yu y colaboradores (1975); Rexen y Thomsen (1976) y Wilkinson y González Santillana (1978a), entre otros.

La porción solubilizada de las hemicelulosas no se recoge en el residuo insoluble en detergente neutro y aparece, consecuentemente, formando parte de la fracción de contenidos celulares, cuya utilización digestiva puede afectar. La solubilización de las hemicelulosas parece ser responsable de la mayor degradabilidad del bagazo de caña de azúcar obtenida mediante inmersión en soluciones alcalinas de distinta concentración por Sharma (1974) y anteriormente por Randel (1972); Las pérdidas del material solubilizado al aplicar un posterior lavado, con objeto de eliminar el exceso de la base, limitan la eficacia del proceso a la vez que supone un costo adicional innecesario.

La efectividad del tratamiento alcalino para incrementar la digestibilidad, independientemente de la naturaleza del producto tratado y del nivel de la base que se incorpora, viene condicionada por la cuantía en que ésta reacciona con el material, la cual es en parte función del tiempo de reacción o exposición a la acción del álcali. El proceso de ensilado del bagazo de caña de azúcar posterior a su tratamiento con NaOH persigue este objetivo, esto es, conseguir la mayor acción hidrolítica del NaOH y paliar al propio tiempo efectos negativos sobre la digestibilidad, derivados de la permanencia en el sustrato de cantidades importantes de sodio residual, que no reacciona y que se encuentra fundamentalmente

al estado de hidróxido y de carbonato.

El aumento que se registra en el contenido en sodio y en el pH con el tratamiento alcalino está en la línea de los resultados encontrados en anteriores trabajos de Chandra y Jackson (1971); Fernández Carmona y -- Greenhalgh (1972); Gharib y colaboradores (1975a); Wilkinson (1978); Wilkinson y González Santillana (1978a). La reducción en 2,5 - 3 unidades que experimenta el pH de los ensilados de bagazo tratados con 2 - 6 g de NaOH/100g de producto derivaría de su neutralización por al gún ácido orgánico formado en el proceso de ensilado y muy fundamentalmente por restos de ácidos urónicos y de la liberación de grupos acetilo y fenilo ligados a las cadenas de xilano de la pared celular (Tarkow y Feist, 1969). Nuestros resultados coinciden con los de Mowat (1971), que observó descensos próximos a 2,5 unidades de pH y de Chandra y Jackson (1971); Agrawal (1975); Fliopot y colaboradores (1976); Wilkinson y González Santillana (1978a) y Fernández y González (1979). Contrariamente, Greenhalgh y colaboradores (1978b) solo registran pequeños descensos en el pH de paja de cebada tra tada con 6,6 g de NaOH/100g de producto como consecuen cia de su ensilado durante un año.

El efecto de neutralización del ensilado sobre el pH es en nuestros ensayos prácticamente total - a los 25 días, por lo que tiempos superiores de permanencia en el silo son, desde este punto de vista, innecesarios.

El descenso que se experimenta en la carga



microbiana del bagazo por efecto de la combinación tratamiento alcalino-ensilado puede atribuirse a la subida del pH que afecta especialmente a los hongos, cuyo pH óptimo de desarrollo se encuentra por debajo del correspondiente a las bacterias, así como a la inadecuación del sustrato para el desarrollo de una actividad microbiana importante. A este respecto puede resultar indicativo el que no se aprecien diferencias en la composición nutritiva del bagazo inicial y del ensilado - adicionado solo de agua. El efecto negativo que la incorporación de NaOH ejerce sobre la microflora del ensilado ha sido observado con anterioridad por Greenhalgh y colaboradores (1978a y b).

Con paja de cebada tratada con concentraciones de NaOH variables entre 0 y 4,2% de su materia seca, -- Wilkinson y González Santillana (1978a) encuentran, en concordancia con nuestros datos, una ligera actividad microbiana, que disminuye al aumentar la dosis de álcali y origina producciones de ácidos grasos volátiles cuantitativamente poco importantes.

La estabilidad del bagazo ensilado tras 10 días de exposición al aire es muy buena a juzgar por la disminución que experimentan las cifras totales de microorganismos viables y particularmente el número de hongos, inferiores a las encontradas por Wilkinson y González Santillana (1978a) y por Greenhalgh y colaboradores (1978b) en paja de cebada.

La adición de productos ricos en carbohidratos solubles, como las melazas, previa al ensilado de bagazo

no parece aconsejable puesto que, según puede deducirse de los resultados de Shultz y colaboradores (1974) y de Hotek y colaboradores (1974), la presencia de azúcares fácilmente degradables en ensilados de pH alcalino favorece el crecimiento de *Clostridium*, que desarrollan una intensa actividad fermentativa con producción de ácidos acético y, fundamentalmente, butírico. Estas consideraciones pueden justificar el hecho de llevar a cabo el ensilado del bagazo de caña de azúcar y la no incorporación de melazas en el momento de ensilar.

El aumento lineal que se obtiene en la digestibilidad "in vitro" del bagazo de caña de azúcar con la aplicación de NaOH en concentraciones crecientes hasta 6 g/100g de bagazo es similar a los descritos por anteriores autores para una amplia gama de subproductos de naturaleza fibrosa tratados con soluciones alcalinas pulverizadas (Wilson y Pigden, 1964; Ololade y colaboradores, 1970; Chandra y Jackson, 1971; Klopfenstein y colaboradores, 1972; Gharib y colaboradores, 1975a y b; Rexen y Thomsen, 1976; Kellaway y colaboradores, 1978; Wilkinson, 1978; Wilkinson y González Santillana, 1978a; Arndt y colaboradores, 1980; Smith y colaboradores, 1981). En nuestros ensayos se producen aumentos de 3,8 y 1,5 unidades porcentuales de digestibilidad para la materia seca y materia orgánica, respectivamente, que son inferiores a los obtenidos por Rexen y Thomsen (1976) y Wilkinson y González Santillana (1978a) para la materia orgánica de paja de cereal sometida a intensidades variables de tratamiento alcalino. Randel (1972), tratando bagazo de caña de azúcar según el sistema Beckmann con un 2% de NaOH,

encontró un aumento de 19,2 unidades porcentuales de la digestibilidad "in vitro" como respuesta a la acción de la base y un coeficiente de digestibilidad para el bagazo bruto de 31,9%, bastante superior a lo observado en nuestros ensayos. Probablemente ello puede atribuirse al hecho de que en nuestras experiencias no se incorporan - al medio carbohidratos solubles y urea como fuentes energética y nitrogenada supletorias, lo que ha podido limitar la actividad de los microorganismos existentes en el líquido ruminal.

La acción del NaOH sobre la digestibilidad "en bolsa de nylon" del ensilado del bagazo de caña de azúcar es semejante a la que ejerce sobre la digestibilidad "in vitro". Nuestros resultados confirman los obtenidos por Martin y colaboradores (1974) en lo que respecta a los - valores para la digestibilidad de la materia seca del bagazo y a la intensidad de respuesta al tratamiento, que - alcanza en nuestros ensayos 6,3 y 5,0 unidades porcentuales por gramo de álcali en el producto para la materia - seca y orgánica, respectivamente. Con paja de trigo y bagazo de caña adicionados de 15g de NaOH/100g de subproducto, Sharma y Jackson (1975) obtuvieron respuestas inferiores utilizando esta misma técnica.

El incremento de la digestibilidad "en bolsa de nylon" de las materias seca y orgánica del bagazo de caña de azúcar se debe a la mayor digestibilidad de sus paredes celulares (Gráfica 6). Los resultados correspondientes a la fracción LAD, que aparecen en la Tabla VII, confirmarían los datos de Fahey y colaboradores (1979), quienes señalan la existencia de compuestos fenólicos en

cantidades importantes en el bagazo de caña de azúcar. - Estos compuestos bajo las condiciones ligeramente ácidas del rumen podrían polimerizarse y originar sustancias insolubles de propiedades análogas a la lignina, lo que explificaría la obtención de coeficientes de digestibilidad negativos para la fracción LAD. Al elevarse el pH de la muestra como resultado de la adición de NaOH y la existencia de sodio residual en el bagazo bajo la forma de hidróxido y carbonato, se modificarían las condiciones del medio en el seno de la bolsa, disminuyendo la formación de estos complejos de lignina artificial, para obtener finalmente con la muestra sometida a la mayor concentración del álcali un coeficiente de digestibilidad positivo.

El bagazo de caña de azúcar sometido a la acción del hidróxido sódico a concentraciones comprendidas entre 0 y 6% y ensilado durante al menos tres meses se utiliza en ensayos de digestibilidad como ingrediente básico de dietas en las que suministra la totalidad o práctica totalidad de los componentes de la pared celular y cantidades de nitrógeno que oscilan entre el 14 y 21% del aporte nitrogenado total de la ración.

Los datos derivados de los experimentos A y B parecen indicar que el bagazo de caña de azúcar podría formar parte de raciones de mantenimiento como las que se utilizan en ensayos de digestibilidad e ingesta del experimento C. Dado que los niveles de proteína en el bagazo son insuficientes para mantener una adecuada actividad funcional de la microflora ruminal, que requiere ni-

veles de proteína en las dietas próximos al 13% (Satter y Roffler, 1973; Satter y Slyter, 1974), las dietas se suplementan con biuret. La elección de esta fuente de NNP como suplemento nitrogenado en este tipo de dietas se fundamenta, de acuerdo con Oldham y colaboradores (1977), en su baja solubilidad y lenta hidrólisis, con el fin de acoplar las velocidades de degradación del sustrato hidrocarbonado, es decir, las disponibilidades energéticas y el suministro de nitrógeno, para, de este modo, alcanzar la máxima capacidad potencial de síntesis de proteína de la microflora ruminal (Oltjen, 1972).

Dado que el biuret utilizado contiene cantidades importantes de urea, cuya hidrólisis es comparativamente mucho más rápida, se incluye en las raciones un 12,5% de melazas, cuyos carbohidratos solubles pueden ser rápidamente utilizados como esqueleto carbonado para la síntesis de proteína microbiana. Al mismo tiempo con la adición de melazas se mejora la palatabilidad de la dieta. El estudio de la eficiencia de utilización del biuret como fuente de NNP se realiza frente a una proteína de buena calidad, como es la que suministra la torta de soja.

Por otro lado, el aumento que experimenta la digestibilidad del bagazo con el tratamiento alcalino puede originar incrementos en las necesidades de nitrógeno de los microorganismos del rumen. A este respecto son muy demostrativas las investigaciones de Ørskov y colaboradores (1972) y Miller (1973), que demuestran que la capacidad de la microflora ruminal para sintetizar -

aminoácidos depende ampliamente del sustrato fermentado. Por ello se ensayan dos niveles de suplementación nitrogenada, de los cuales el superior podría ser teóricamente adecuado para alcanzar en el rumen niveles de amoníaco próximos a los requerimientos de la población microbiana ruminal.

En la bibliografía se registran períodos de -- adaptación al biuret que, de acuerdo con Kondos (1975), oscilan entre 10 días y 10 semanas, necesarios para lograr la máxima actividad biuretoltica en el rumen. La mayoría de los ensayos indican que este máximo se alcanza antes de las 5-6 semanas (Welch y colaboradores, 1957; Campbell y colaboradores (1963); Schroder y Gilchrist, 1969; Kondos, 1975), si bien se requiere más tiempo para obtener la mayor actividad hidrolítica conforme aumenta el contenido en proteína de la dieta (Schroder, 1970) o es superior la suplementación con biuret (Hatfield y colaboradores, 1959; McLaren y colaboradores, 1960; Tiwari y colaboradores, 1973b). En nuestras experiencias el período de adaptación al biuret se extiende a lo largo de 25 días, que siguen a uno preexperimental, cuya misión es la de permitir fijar el volumen de ingesta a mantener durante el ensayo de digestibilidad y que ocupa unos 10-12 días.

En los ensayos de ingesta y digestibilidad "in vivo" la variabilidad individual, juzgada por los coeficientes de variación de nuestros resultados, se encuentra dentro de los límites normales en este tipo de ensayos (Blaxter, 1962). La mayor entidad del error en-

contrado en la determinación de la utilización digestiva de las fracciones de hemicelulosas y LAD, así como en los resultados de balance de nitrógeno, derivan, al menos -- parcialmente, de limitaciones en las técnicas analíticas de cuantificación, en el primer caso, y de la proximidad de los niveles de nitrógeno en las dietas a los adecuados para cubrir las necesidades de mantenimiento, lo que determina en buen número de animales balances negativos.

En el estudio estadístico de los parámetros -- considerados en las experiencias de la digestibilidad -- "in vivo" aparecen frecuentemente interacciones, con carácter significativo, de segundo y tercer orden. Ello modula la acción de los factores ensayados en nuestras condiciones de experimentación, por lo que todo comentario a tal o cual efecto se realiza en este contexto. Independientemente del efecto global que pueda aparecer, el -- cual es generalizable, el estudio de estas interacciones nos permite entrar en el detalle de la idoneidad o nó de una determinada combinación. Así mismo, la existencia de una interacción puede anular la detección de un efecto cuya existencia es real.

Admitiendo para la materia orgánica del conjunto de ingredientes que se incorporan al bagazo en la elaboración de las raciones experimentales una digestibilidad constante del 90%, el coeficiente de utilización digestiva de la fracción orgánica de éste experimenta un -- aumento de hasta 24,2 unidades porcentuales por la adición del NaOH, lo que supone un incremento medio que supera las 4 unidades por gramo de álcali incorporado. Estos resultados confirman anteriores investigaciones de Chandra y

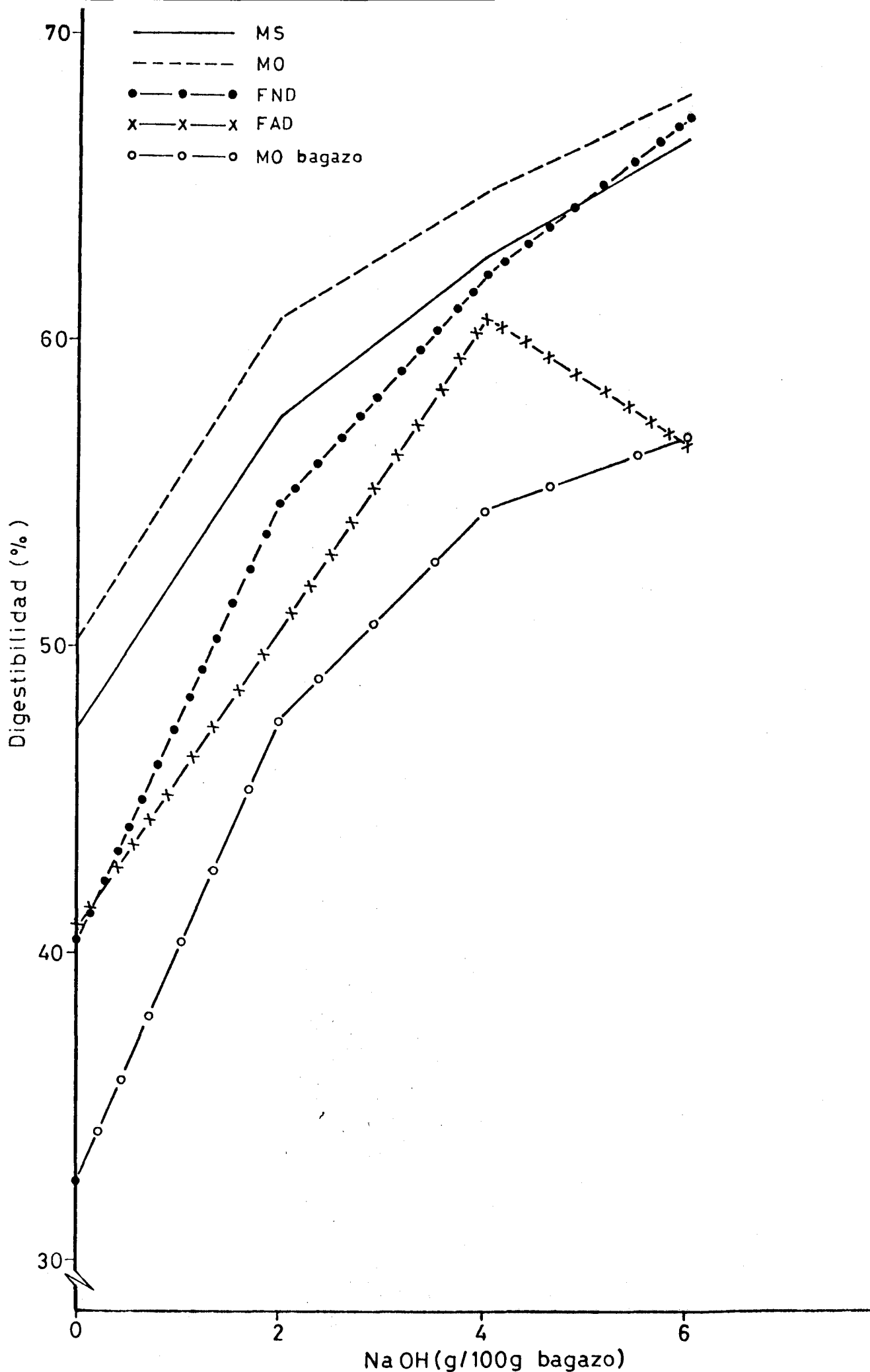
Jackson (1971); Singh y Jackson (1971); Klopfenstein y colaboradores (1972); Ololade y Mowat (1975); Singh y Jackson (1975); Rexen y Thomsen (1976); McManus y Choung (1976); Kategile (1979); Kategile y Frederiksen (1979), que registran incrementos lineales en la digestibilidad de paja de cereales adicionadas de hasta 3-6 g de NaOH/100g de subproducto. La magnitud de respuesta obtenida en nuestros ensayos supera a las descritas por Singh y Jackson (1971); Fernández Carmona y Greenhalgh (1972); Piatkowski y colaboradores (1974); Jayasuriya y Owen - (1975); Ololade y Mowat (1975); Greenhalgh y colaboradores (1976); Rexen y Thomsen (1976); Pirie y Greenhalgh (1978), con raciones constituidas fundamentalmente por - pajas de cereales tratadas con álcali y a los resultados de Kategile y Frederiksen (1979) para dietas a base de zuros de maíz tratados y están muy próximos a los encontrados por Klopfenstein y colaboradores (1972) con raciones de características similares a las estudiadas - por los autores anteriores.

No obstante la gran intensidad de respuesta a la acción del NaOH, el valor nutritivo del bagazo de caña de azúcar, expresado por la digestibilidad de su materia orgánica que iguala a su contenido en TDN, es inferior al correspondiente a las pajas de cereales sometidas a tratamientos idénticos con NaOH por pulverización de soluciones concentradas del álcali, lo que confirma observaciones anteriores de Verma y Jackson (1975). Los resultados están más próximos a los que se derivan del - tratamiento de productos más lignificados, como son las - cascarillas de cártamo y cacahuete o el serrín de chopo



(Feist y colaboradores, 1970; Guggolz y colaboradores, 1971; Mellenberger y colaboradores, 1971; Choung y McManus, 1976).

Se aprecia un declive en la amplitud de respuesta al tratamiento alcalino al aumentar la concentración de la base (Gráfica 7), probablemente atribuible al aumento que tiene lugar en la presión osmótica ruminal con la incorporación de NaOH (Ololade y colaboradores, 1972), la cual reduciría la actividad microbiana en el rumen (Bergen, 1970), y a la reducción del tiempo de paso del alimento a través del digestivo, inducida por el creciente consumo de agua que implica la incorporación de cantidades de NaOH en el subproducto cada vez más elevadas (Bolduan y colaboradores, 1974; McManus y colaboradores, 1976; Berger y colaboradores, 1980). - Además, con las raciones de mayor digestibilidad (4-6 g NaOH/100g bagazo) se registran consumos del alimento más elevados que originan tiempos de retención inferiores en el rumen, con lo que los microorganismos de la panza disponen de períodos más cortos para llevar a cabo la fermentación de celulosa y hemicelulosas (Van Es y Van der Meer, 1980). Ninguna de estas circunstancias concurren en los ensayos de digestibilidad "in vitro" o "en bolsa de nylon"; de ahí que en estos casos sea distinto el tipo de respuesta al tratamiento alcalino (Gráficas 5 y 6) para estos parámetros, confirmando anteriores investigaciones de Wilson y Pigden (1964); Ololade y colaboradores (1970); Chandra y Jackson -- (1971); Fernández Carmona y Greenhalgh (1972); Jayasuriya y Owen (1975); Rexen y Thomsen (1976); Jackson



Gráfica 7. Efecto del tratamiento alcalino sobre la digestibilidad "in vivo" de la dieta experimental y del bagazo de caña de azúcar

(1977).

Los coeficientes de digestibilidad de la materia seca y sustancia orgánica de las raciones experimentales que contienen bagazo no tratado son ligeramente inferiores a los obtenidos previamente por Stone y colaboradores (1966) y Randel (1972) ensayando raciones en las que el bagazo constituye un ingrediente cuantitativamente menos importante. Randel (1972) obtiene coeficientes de utilización digestiva de la materia seca y sustancia orgánica de raciones que incluyen un 40% de bagazo, al que se aplicó previamente el tratamiento de NaOH (2g/100 g de producto) según la técnica de Beckmann, sensiblemente iguales a los aquí encontrados para las raciones que contienen bagazo al que se ha aplicado la concentración superior de NaOH. En líneas generales, la digestibilidad de nuestras raciones experimentales es inferior a la señalada para dietas que incluyen porcentajes variables de pajas de cereales previamente sometidas a la acción del NaOH en distintas concentraciones (Maeng y colaboradores 1971; Saxena y colaboradores, 1971; Fernández Carmona y Greenhalgh, 1972; Piatkowski y colaboradores, 1974a y b; Jayasuriya y Owen, 1975; Braman y Abe, 1976; Oji y colaboradores, 1976; Greenhalgh y colaboradores, 1976 y -- 1978a y b; Pirie y Greenhalgh, 1978; Coombe y colaboradores, 1979; Garret y colaboradores, 1979).

En concordancia con las investigaciones de Fernández Carmona y Greenhalgh (1972) y Thomsen y colaboradores (1973), la mayor digestibilidad de la materia orgánica del bagazo de caña de azúcar que se obtiene en nues

tras condiciones de experimentación con la adición de NaOH, se debe al incremento que experimenta la digestibilidad de las paredes celulares, bien como consecuencia de su parcial solubilización, bien por una mayor degradabilidad del material no solubilizado. La porción solubilizada de la pared celular que no se recoge en el resíduo insoluble en detergente neutro, afecta a la digestibilidad de los contenidos celulares (SDN). Pueden tener lugar cambios en la solubilidad de esa fracción durante el paso del alimento por el digestivo que le pone en -- contacto con medios cuyas condiciones de pH son muy diversas.

Excepto para la lignina, los restantes compones de la pared celular ven incrementada su digestibilidad con la aplicación del NaOH. Aunque son abundantes los estudios realizados acerca del efecto de la incorporación de álcali sobre la digestibilidad de productos fibrosos, fundamentalmente pajas de cereales, son - sin embargo escasos los trabajos que consideran la digestibilidad de los distintos componentes de la pared celular, lo que limita obligatoriamente el estudio comparativo de los datos.

En el caso de las hemicelulosas, su mayor digestibilidad viene determinada probablemente por la liberación de grupos fenilo y acetilo, que son particularmente abundantes en las hemicelulosas de gramíneas (Morris y Bacon, 1976). Como esta fracción se obtiene por diferencia entre FND y FAD, la formación de compuestos análogos a la lignina, solubles en detergente neutro e

insolubles en detergente ácido, que aparecen en la excreción fecal correspondiente a dietas en que el bagazo que incluyen contiene las mayores concentraciones del álcali, determina que la fracción FAD en las heces supere a la FND (Gráficas 2 y 3), con lo que se obtienen coeficientes de digestibilidad para esta fracción que superan el 100%. Análogos resultados han obtenido Rexen y Thomsen (1976) ensayando en corderos paja de cebada tratada con 4 y 6% de NaOH.

Los aumentos en los coeficientes de utilización digestiva de la celulosa por la aplicación del tratamiento alcalino son imputables tanto a la rotura de puentes de hidrógeno dentro de las fibrillas de celulosa (Whistler y Teng, 1970; Bacon, 1979), como a la saponificación de uniones de tipo éster entre celulosa y hemicelulosas (Feist y colaboradores, 1970).

En nuestros ensayos hemos obtenido coeficientes de digestibilidad de la fracción LAD que oscilan entre el 25 y el 28% para el bagazo al que se incorpora hasta un 4% de NaOH. Estas cifras superan el valor medio de 19,9% para bagazo de caña de azúcar bruto, obtenida por Fahey y colaboradores (1979). Es posible que en presencia de las melazas y el almidón incorporados a las dietas experimentales se formen complejos lignina-carbohidrato solubles por acción de la microflora ruminal, que permanecen en solución a lo largo del intestino y no se recogen en el residuo fibroso resultante de tratar las heces con detergente ácido (Gaillard y Richards, 1975). Esto explicaría la parcial digestibilidad de la

fracción LAD que también han encontrado otros autores - (Allison y Osbourn, 1970; Minson, 1971; Grant y colaboradores, 1974) y que indiscutiblemente cuestiona la idoneidad de la lignina como indicador en ensayos de digestibilidad.

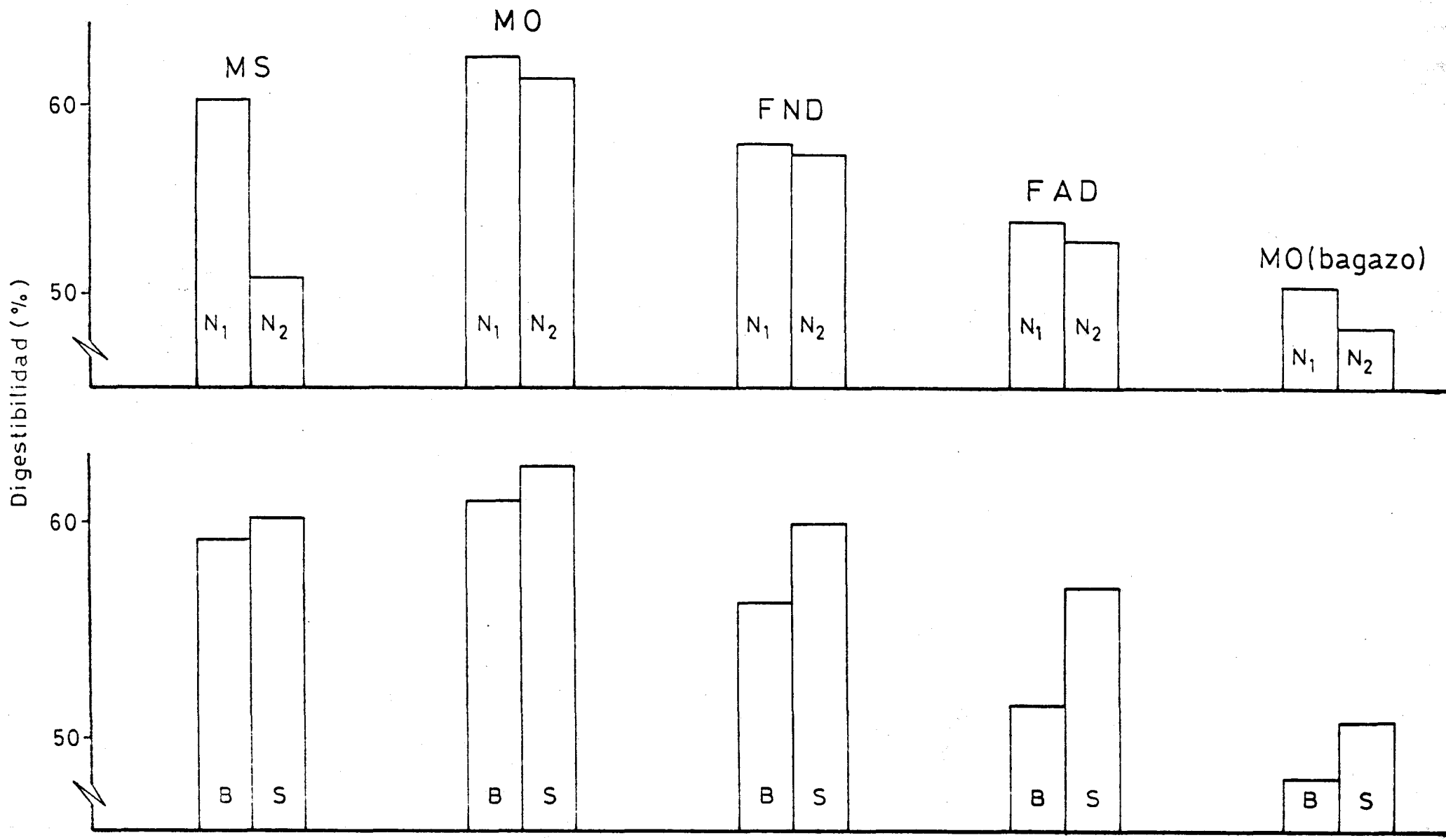
Por otro lado, la existencia de gran cantidad de compuestos fenólicos - ácidos ferúlico y p-cumárico- en el bagazo (Fahey y colaboradores, 1979) podría favorecer en medio ácido la formación de polímeros insolubles de propiedades similares a la lignina (Hartley y Jones, 1978) que explicarían la obtención de los coeficientes de digestibilidad negativos para esta fracción de LAD con la mayor intensidad de tratamiento alcalino. Cabe suponer que con esta concentración superior de álcali se liberan cantidades importantes de restos fenólicos y estas unidades monoméricas, en el medio ligeramente ácido que proporciona el pH ruminal, se polimerizan dando complejos insolubles, que se recogen en la fracción de FAD fecal.

Allison y Osbourn (1970) y Fahey y colaboradores (1979) han obtenido coeficientes de utilización de la LAD negativos e inferiores a los aquí encontrados. Rexen y Thomsen (1976) obtienen con paja de cebada tratada con NaOH al 6% o con NaOH +  $S_2O_3Na_2$  (3 + 3)% coeficientes de -7,1 y -15,5%, respectivamente. La presencia de 3 ó 4% de NaOH y de (1 + 1)% ó (2 + 2)% de NaOH +  $S_2O_3Na_2$  determinó coeficientes de utilización digestiva de la LAD muy reducidos (8,3, 2,2% 0,7 y 2,9 %, respectivamente). No es extraño que en los ensayos



en que aparecen artefactos de lignina la variabilidad animal adquiera gran magnitud, disminuyendo la posibilidad de detección de diferencias imputables a los factores estudiados.

En nuestros ensayos no hemos encontrado variaciones significativas en la digestibilidad de las materias seca y orgánica, ni de los componentes de la pared celular de las raciones atribuibles al nivel de nitrógeno en la dieta, con la excepción de la fracción de hemicelulosas (Gráfica 8), cuya estimación está, como ya se ha indicado, fuertemente condicionada por la presencia de compuestos de lignina artificial, cuantitativamente muy importante con el nivel superior de tratamiento alcalino y que distorsiona la utilización digestiva real de esa fracción. Probablemente en estas raciones el crecimiento bacteriano está más limitado por la velocidad de fermentación de la fuente energética que por la disponibilidad de nitrógeno. Es por ello que el nivel de nitrógeno en la dieta tampoco afecta a la eficiencia de su utilización metabólica (su efecto sobre la absorción es solo aparente, ya que no implica su conversión previa en proteína microbiana). Nuestras investigaciones arrojan resultados no coincidentes con los de Campling y colaboradores (1962); Moir y Harris (1962); Raleigh y Wallace (1963); Donefer (1968); Donefer y colaboradores (1969); Winter y Pigden (1971); Rahal y Naik (1976); Ørskov y Grubb (1978) y Kategile (1979), que encontraron mayor utilización digestiva de la dieta por la incorporación de NNP a la ración, si bien los resultados son matizables en función del nivel de nitrógeno en el alimento no supe



Gráfica 8. Efecto del nivel y origen del nitrógeno en la ración sobre la digestibilidad "in vivo" de la dieta experimental y del bagazo de caña de azúcar



mentado. Contrariamente a estos autores, Braman y Abe -- (1977) encontraron en raciones que contenían un 50% de paja de trigo tratada con 2.6 4% de NaOH una reducción de la ingesta y el balance de nitrógeno al suplementar con hasta un 2% de urea.

En contraposición a lo expuesto para el nivel de nitrógeno, su origen tiene un claro efecto significativo sobre la utilización digestiva de los distintos componentes de la pared celular, con la excepción de las hemicelulosas, donde tal efecto carece de validez estadística. Los resultados muestran que es superior la utilización digestiva de esos componentes con la incorporación de torta de soja. Esto parece sugerir una mayor eficiencia de utilización de la proteína de la soja por la microflora ruminal comparativamente frente a la fuente de -- NNP, aunque no se obtienen balances de nitrógeno más favorables, fenómeno que por otro lado está extensamente recogido en la bibliografía. Así, parece existir una mayor sincronización en las velocidades de degradación del bagazo y del aporte de nitrógeno de la proteína de la torta de soja. En cualquier caso la presencia de interacciones Nivel de N x Fuente de N y de tercer orden dificulta sobremanera la interpretación de los resultados y limita su aplicación a las condiciones dadas en nuestros ensayos, en lo que a magnitud de efecto se refiere.

La menor eficiencia de utilización de la fuente de NNP utilizada frente a la torta de soja podría -- ser también el resultado de una adaptación parcial al -- biuret, dado que se han encontrado necesarios hasta 70 --

días para alcanzar la máxima actividad biuretólica en el rumen, dependiendo del contenido de proteína de la ración que se suplementa (Schroder, 1970) y del grado de incorporación del biuret (Hatfield y colaboradores, 1959; McLaren y colaboradores, 1960; Tiwari y colaboradores, 1963b).

Los datos obtenidos en estas investigaciones acerca del efecto del tratamiento alcalino sobre la retención de nitrógeno están en la línea de los encontrados por Koers y colaboradores (1969); Klopfenstein y colaboradores (1972); Shultz y Ralston (1974) y Donaldson y colaboradores (1976), quienes señalan resultados favorables derivados de la acción del álcali sobre el balance de nitrógeno.

En nuestras experiencias parece claro que en el caso de bagazo no tratado con álcali la disgregabilidad del sustrato no permite en el rumen un adecuado crecimiento bacteriano, que está limitado, consecuentemente, por la disponibilidad de energía. En estas circunstancias gran parte de la ingesta llega al ciego e intestino grueso; el nitrógeno que se incorpora a los microorganismos en la acción bacteriana que tiene lugar aquí no es útil para el animal y se excreta con las heces. Todo ello, de acuerdo con Ørskov (1979) y Ørskov y Grubb --- (1978), puede explicar los resultados de balance de nitrógeno que hemos obtenido con aquellas dietas.

Con el tratamiento alcalino aumenta la cantidad de sustrato potencialmente fermentable por acción de la microflora ruminal y ello se traduce en la obtención de

balances de nitrógeno positivos, significativamente distintos de los que derivan del consumo de bagazo de caña de azúcar no tratado con álcali. Aunque no se obtienen diferencias estadísticamente válidas debido a la gran variabilidad individual, al elevarse la concentración de NaOH se favorece la retención absoluta y porcentual de nitrógeno, así como la eficiencia de utilización del nitrógeno absorbido, si bien la magnitud de la respuesta declina con niveles crecientes de álcali en el subproducto. Ello puede ser consecuencia de la mayor ingesta de agua que se produce con el consumo de las raciones que contienen los niveles más elevados de sodio, hecho que aparece recogido en la bibliografía (Maeng y colaboradores, 1971; Singh y Jackson, 1971 y 1975; Voight y Piatkowski, 1974; Choung y McManus, 1976; McManus y colaboradores, 1976; Pirie y Greenhalgh, 1978; Arndt y colaboradores, 1980). La elevación en el consumo de agua aumenta la velocidad de paso de la digesta a través del rumen y, paralelamente disminuye la cantidad de sustrato lignocelulósico que fermenta en ese órgano (Bolduan y colaboradores, 1974; McManus y colaboradores, 1976; Berger y colaboradores, 1980). Aunque en el ciego siga degradándose este sustrato, todo el nitrógeno que aquí se incorpora a los microorganismos no es utilizable y se excreta en heces.

Los resultados correspondientes a ingesta/animal y día obtenidos en estos ensayos con respecto al tratamiento alcalino confirman anteriores investigaciones (Jackson, 1977). Los incrementos que se registran en nuestros ensayos son próximos a los observados por Braman y

Abe (1976); Pirie y Greenhalgh (1978) y Greenhalgh y colaboradores (1978a y b) e inferiores a los señalados -- por Saxena y colaboradores (1971); Fernández Carmona y Greenhalgh (1972) y Oji y colaboradores (1976), ensayando dietas que contienen pajas de cereales sometidas a concentraciones variables de álcali. El tratamiento alcalino no solo favorece la digestibilidad de los componentes de la pared celular, sino que también y de acuerdo con las investigaciones de Thomsen y colaboradores (1973), aumenta su velocidad de degradación, lo que permite consumos superiores de alimento (Blaxter, 1962; Campling y colaboradores, 1962). No obstante es necesario señalar -- que nuestros resultados son ligeramente inferiores a los valores potenciales, puesto que una vez conocida la máxima ingesta individual, se reduce ésta en aproximadamente un 10%, al objeto de evitar que los animales dejen restos durante las experiencias de digestibilidad.

Cabría esperar ingestas mayores con los niveles superiores de nitrógeno en la dieta, fácilmente explicables si tales niveles hubiesen determinado aumentos en la digestibilidad de las raciones experimentales lo que, salvo para las hemicelulosas, no es cierto. Por -- ello, el efecto favorable y estadísticamente válido --- ( $P < .001$ ) que el nivel de suplementación nitrogenada -- ejerce sobre el consumo voluntario podría ser el resultado de una mejor palatabilidad de las dietas que contienen los porcentajes mayores de biuret o torta de soja.

La inclusión de torta de soja como fuente nitrogenada en la dieta determina ingestas más elevadas,

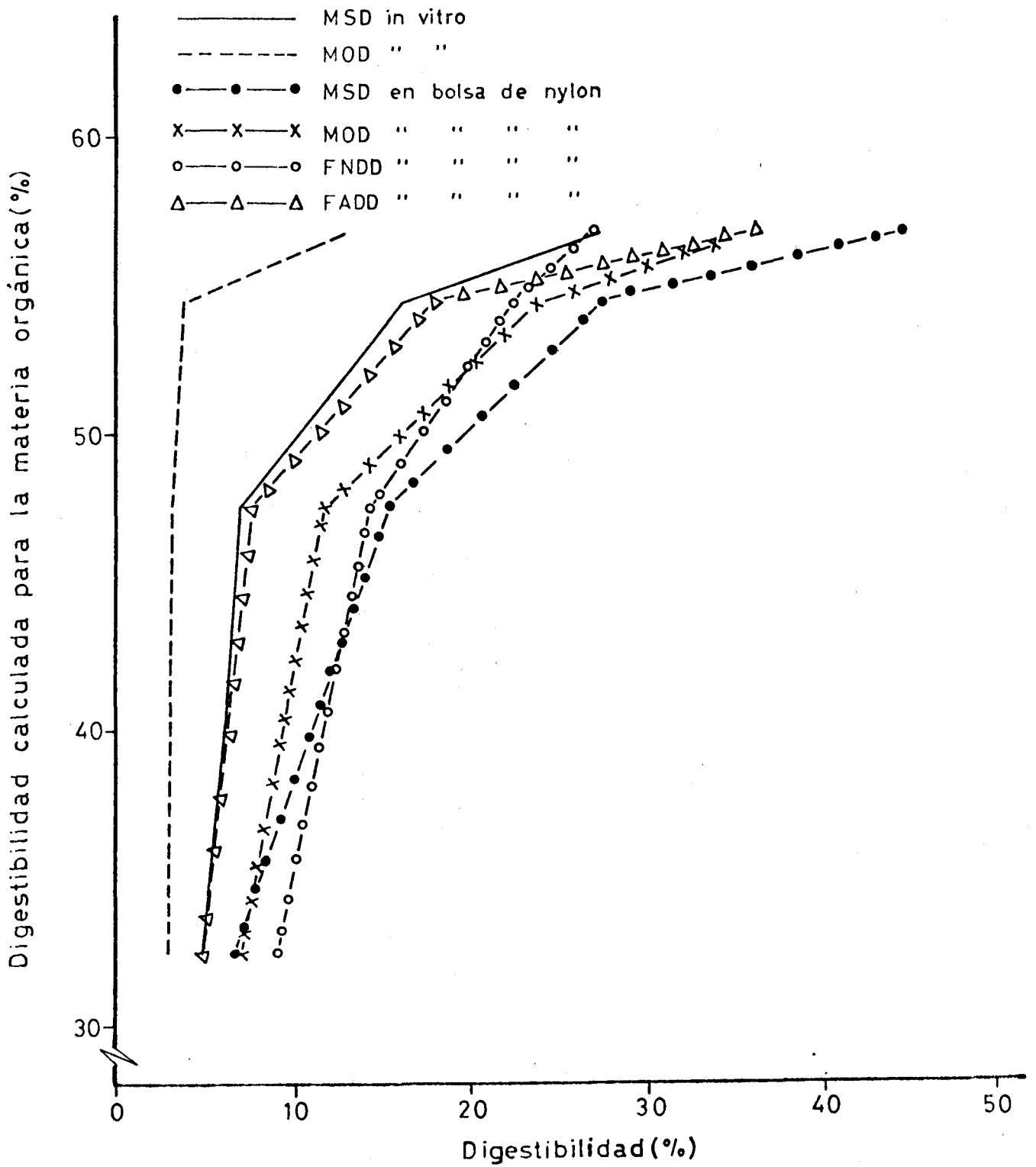
con independencia de que los animales se alojen individual o colectivamente, lo que sin duda es consecuencia inmediata del efecto favorable que ejerce sobre la degradabilidad de la pared celular en el bagazo.

La información que se pretende obtener del ensayo de ingesta con animales agrupados queda bastante - limitada dadas las características anómalas del ensilado de bagazo tratado con un 4% de NaOH, no obstante lo cual permite poner de manifiesto la diferencia de comportamiento de los animales experimentales cuando no permanecen - aislados, que se traduce en consumos de alimento muy superiores a los registrados en los ensayos de digestibilidad ( $P < .001$ ).

Aunque es posible establecer relaciones matemáticas que permitan el cálculo de la digestibilidad de la materia orgánica del bagazo en función de su composición nutritiva o de su digestibilidad "in vitro" o "en bolsa de nylon", parámetros todos ellos variables de -- acuerdo con la intensidad del tratamiento alcalino, que obviarían la necesidad de acudir a ensayos biológicos - para conocer su valor nutritivo, la existencia en nuestros ensayos de interacciones de segundo y tercer orden limita su aplicación a la combinación de factores utilizados en estas experiencias. En otras palabras, las ecuaciones que se derivasen carecerían de la adecuada precisión cuando se aplicasen a otras circunstancias. Es por ello que nos hemos limitado a establecer gráficamente - las relaciones entre la digestibilidad "in vivo" de la materia orgánica del bagazo de caña de azúcar y los re-

sultados de su digestibilidad "in vitro" o "en bolsa de nylon" (Gráfica 9).

Con el bagazo no tratado o adicionado de un 2% de NaOH, pequeñas variaciones en los resultados de ensayos de laboratorio, situadas dentro del error admisible en la determinación, pueden originar estimaciones muy -- distintas en la digestibilidad del bagazo. Contrariamente, con la excepción de la digestibilidad "in vitro" de la materia orgánica del bagazo, cualquiera de los parámetros considerados podría dar una estimación razonable de la - utilización digestiva del subproducto, cuando se hubiese sometido a tratamiento con soluciones pulverizadas que - determinasen en el bagazo concentraciones de hidróxido - sódico comprendidas entre 2 y 6g/100g de producto.



Gráfica 9. Relación entre materia orgánica digestible calculada para el bagazo de caña de azúcar y digestibilidad "in vitro" y "en bolsa de nylon" de alguno de sus nutrientes.

6.- RESUMEN Y CONCLUSIONES



## 6.- RESUMEN Y CONCLUSIONES

Se han realizado tres experimentos con bagazo de caña de azúcar. En el primero (experimento A) el subproducto desecado hasta que su contenido en agua no supera el 25% se trata en la relación 1:1 con soluciones de NaOH de concentración creciente para que el contenido final de NaOH adicionado sea 0, 2, 4 o 6 g/100g del subproducto desecado. Las soluciones alcalinas se aplican pulverizadas sobre el bagazo extendido formando una fina capa. Finalmente el bagazo se ensila durante 90 días en silos torre tipo Aberdeen. Alícuotas paralelas se conservan en condiciones anaerobias en bolsas de plástico a temperatura ambiente durante 25 días.

Es objeto de este experimento el estudio de las variaciones producidas en la composición nutritiva del bagazo sometido a los tratamientos indicados, así como el de la estabilidad de los distintos ensilados, juzgada desde el punto de vista de su carga microbiana.

En el segundo experimento (B) se estudia la digestibilidad "in vitro" y la digestibilidad "en bolsa de nylon" de los ensilados de bagazo tratado con el álcali, con objeto de valorar el efecto de los distintos tratamientos y, en último término, obtener relaciones entre estos datos biológicos de laboratorio y los resultados de ensayos de digestibilidad "in vivo".

El tercer experimento (C) comprende 16 ensayos de digestibilidad agrupados según un diseño factorial 4 x 2 x 2, llevados a cabo en lotes de seis corderos adul

tos, que consumen dietas isocalóricas basadas en los ensilados de bagazo de caña de azúcar preparados en el experimento A, suplementados con biuret de grado alimenticio purificado (biuret-urea), ofrecido a dos niveles de modo que el contenido de nitrógeno total de las dietas sea 1,65 o 2,10%. El estudio de esta fuente de NNP se realiza frente a la proteína de la torta de soja.

El valor nutritivo del bagazo de caña de azúcar se obtiene admitiendo para el resto de ingredientes una digestibilidad de su materia orgánica constante del 90%.

El experimento comprende así mismo un estudio de la ingesta voluntaria de las dietas experimentales con animales alojados tanto individual como colectivamente.

Los resultados de las investigaciones se someten a tratamiento estadístico, al objeto de determinar la significación de los factores estudiados.

De nuestros ensayos concluimos:

PRIMERO.- El tratamiento alcalino por aplicación de soluciones pulverizadas reduce en el bagazo de caña de azúcar el contenido porcentual de paredes celulares (FND), sin afectar a la fracción de lignocelulosa (FAD). El descenso en FND se debe fundamentalmente a la parcial solubilización de las hemicelulosas y muy ligeramente a una cierta deslignificación.

SEGUNDO.- El ensilado del subproducto tratado provoca un descenso importante en el pH del bagazo, indica

tivo de la parcial neutralización del sodio residual. La reacción es prácticamente completa a los 25 días, por lo que no son necesarios períodos de ensilado más prolongados.

TERCERO.- La estabilidad del producto tratado con álcali, tanto durante su ensilado como en su posterior contacto con el ambiente, es muy buena. La presencia de hidróxido sódico en el silo inhibe el desarrollo de bacterias y hongos, lo que se ve favorecido por el contenido extraordinariamente reducido de carbohidratos solubles en el sustrato.

CUARTO.- La presencia de NaOH en concentraciones crecientes determina incrementos lineales de la digestibilidad "in vitro" y "en bolsa de nylon" del ensilado de bagazo de caña de azúcar, imputables a la mayor disgregabilidad de sus paredes celulares.

QUINTO.- El valor nutritivo del bagazo de caña de azúcar, expresado como contenido en materia orgánica digestible, aumenta rápidamente con la aplicación del álcali, lo que se atribuye tanto al material solubilizado como a los cambios estructurales - que el álcali produce en la porción no solubilizada de la pared celular, que favorecen su degradabilidad por los microorganismos del rumen. El efecto es significativo sobre todos sus compuestos  $\beta$ -glucosídicos y repercute favorablemente en el volumen de ingesta. La magnitud del --

efecto tiende a declinar conforme aumenta la concentración de NaOH en el bagazo, probablemente - como consecuencia de un aumento en la presión osmótica ruminal que inhibe el crecimiento microbiano y de la importante elevación de la ingesta de agua a que conduce el consumo de estas dietas.

SEXTO.- La utilización digestiva de las dietas basadas - en el ensilado de bagazo de caña de azúcar sometido a los distintos tratamientos con álcali es superior cuando el aporte nitrogenado lo suministra una proteína de buena calidad. La suplementación con biuret-urea disminuye la degradación microbiana de la ración en el rumen. Ello se interpreta como el resultado de una falta de acoplamiento entre la formación de  $NH_3$  ruminal y la disponibilidad energética de la fracción orgánica - del sustrato.

SEPTIMO.- Con las dietas estudiadas las necesidades de la microflora ruminal parecen cubiertas cuando el nivel de nitrógeno total alcanza el 1,65%, lo - que sugiere que el crecimiento microbiano está más limitado por el aporte energético que por - los niveles de nitrógeno en la ración.

OCTAVO.- De todo se deduce que la aplicación de la solución alcalina pulverizada que incluye 4 g de NaOH/100g de subproducto constituye el tratamiento de elección. El producto tratado y sometido a un -- cierto período de ensilado puede incluirse en la formulación de dietas con las que se alcancen niveles de producción moderados.

7.- BIBLIOGRAFIA

7.- BIBLIOGRAFIA

- ACOCK, C.W., WARD, J.K., RUSH, I.G. y KLOPFENSTEIN, T.J. (1979). Wheat straw and sodium hydroxide treatment in beef cow rations. J. Anim. Sci. 49, 354.
- AGRAWAL, I.S. (1975). The effect of curing time on the digestibility of paddy and wheat straw. En Improved utilisation of agricultural waste materials and industrial by-products as livestock feed. Research Progress Report 1969-1974. G.B. Pant - Univ., Pantnagar, pag. 28.
- ALLISON, D.W. y OSBOURN, D.F. (1970). The cellulose-lignin complex in forages and its relationship to forage nutritive value. J. agric. Sci., Camb. - 74, 23.
- AMMERMAN, C.B., VERDE, G.J., MOORE, J.E., BURNS, W.C. y CHICCO, C.F. (1972). Biuret, urea and natural - proteins as nitrogen supplements for low-quality roughage for sheep. J. Anim. Sci. 35, 121.
- ANDERSON, D.C. y RALSTON, A.T. (1973). Chemical treatment of ryegrass straw: in vitro dry matter digestibility and compositional changes. J. Anim. Sci. 37, 148.
- ARNDT, D.L., RICHARDSON, C.R., ALBIN, R.C. y SHERROD, L. B. (1980). Digestibility of chemically treated cotton plant by product and effect on mineral - balance, urine volume and pH. J. Anim. Sci. 51, 215.

- ASH, R.W. (1957). A large-diameter rumen cannula for sheep. *J. Physiol.* 139, 6P.
- BACON, J.S.D. (1979). Plant cell wall digestibility and chemical structure. *Rep. Rowett Inst.* 35, 99.
- BAUMGARDT, B.R. (1970). Control of feed intake in the regulation of energy balance. En *Physiology of digestion and metabolism in the ruminant* (A.T. Phillipson, ed.). Newcastle upon Tyne: Oriel Press, pag. 235.
- BAURIEDEL, W.R. (1970). Hydrolysis of  $^{14}\text{C}$ -Biuret by in vitro rumen fermentation and crude biuretase preparations. *J. Anim. Sci.* 32, 704.
- BECKMANN, E. (1921). Conversion of grain straw and lupins into feeds of high nutrient value. *Festchr. Kaiser Welhalmges. Forderung Wiss. Zehnjährigen Jubiläum*, pag. 18. (Cita tomada de Jackson, 1977).
- BERGEN, W.G. (1970). Osmolality and rumen function in sheep. *J. Anim. Sci.* 31, 236 (Abstr.).
- BERGER, L.L., KLOPFENSTEIN, T.J. y BRITTON, R.A. (1980). Effect of sodium hydroxide treatment on rate of passage and rate of ruminal fiber digestion. *J. Anim. Sci.* 50, 745.
- BERRY, W.T., Jr., RIGGS, J.K. y KUNKEL, H.O. (1956). The lack of toxicity of biuret to animals. *J. Anim. Sci.* 15, 225.
- BLAXTER, K.L. (1962). *The energy metabolism of ruminants.* Londres: Hutchinson.

- BLAXTER, K.L. y WILSON, R.S. (1963). The assessment of a crop husbandry technique in terms of animal production. *Anim. Prod.* 5, 27.
- BOLDUAN, G., VOIGT, J. y PIATKOWSKI, B. (1974). Untersuchungen zum Aufschluss von Getreidestroh. 3. Einfluss der Behandlung mit Notronlaugs auf die Pansenfermentation in Versuchen an Kuhen. *Arch. - Tierernahr.* 24, 149.
- BRAMAN, W.L. y ABE, R.K. (1976). NaOH-treated wheat and oat straws for finishing cattle diets. *J. Anim. Sci.* 42, 262 (Abstr.).
- BRAMAN, W.L. y ABE, R.K. (1977). Laboratory and in vivo evaluation of the nutritive value of NaOH-treated wheat straw. *J. Anim. Sci.* 45, 496.
- BROWN, G.F., ARMSTRONG, D.G. y MacRAE, J.C. (1968). The establishment in one operation of a cannula into the rumen and re-entrant cannulae into the duodenum and ileum of the sheep. *Br. Vet. J.* 124, 78.
- BURROUGHS, W., NILSON, D.K. y MERTENS, D.R. (1975). Evaluation of protein nutrition by metabolizable - protein and urea fermentation potential. *J. Dairy Sci.* 58, 611.
- CAMPBELL, T.C. LOOSLI, J.K., WARNER, R.G. y TASAKI, I. - (1963). Utilization of biuret by ruminants. *J. Anim. Sci.* 22, 139.
- CAMPLING, R.C. (1970). Physical regulation of voluntary



- intake. En Physiology of digestion and metabolism in the ruminant. (A.T. Phillipson, ed). Newcastle upon Tyne: Oriel Press, pag. 226.
- CAMPLING, R.C., FREER, M. y BALCH, C.C. (1962). Factor - affecting the voluntary intake of food by cows. 3. The effect of urea on the voluntary intake of oat straw. Br. J. Nutr. 16, 115.
- CHALUPA, W. (1973). Utilization of non-protein nitrogen in the production of animal protein. Proc. Nutr. Soc. 32, 99.
- CHANDRA, S. y JACKSON, M.G. (1971). A study of various - chemical treatments to remove lignin from coarse roughages and increase their digestibility. J. agric. Sci. Camb. 77, 11.
- CHARLET-LERY, G. (1969). Methods for determination of di- gestibility coefficients of feeds for ruminants. E.A.A.P. Report n.1 from the Study Commission on animal nutrition. Gjovik: Mariendals Boktry Khe- ri AS.
- CHICCO, C.F., SHULTZ, E. y SHULTZ, T.A. (1972). Algunas observaciones sobre niveles de melaza en suple- mentos con urea y biuret para ovinos. Agronomía trop. 22, 271.
- CHING CHUN, L. (1969). Introducción a la estadística expe- rimental. Barcelona: Omega.
- CHOUNG, C.C. y McMANUS, W.R. (1976). Studies on forage - cell walls. 3. Effects of feeding alkali-treated

rice hulls to sheep. J. agric. Sci., Camb. 86, 517.

CLANTON, D.C. (1970). Non protein nitrogen in range supplements. Proc. Texas Nutr. Conf. 25, 131.

CLARK, R., BARRETT, E.L. y KELLERMAN, J.H. (1963). A comparison between nitrogen retention from biuret and urea by sheep on a low protein diet. J.S. Afr. vet. med. Ass. 34, 419.

CLARK, R., BARRETT, E.L. y KELLERMAN, J.H. (1965). A comparison between nitrogen retention from urea, biuret, triuret and cyanuric acid by sheep on a low protein roughage diet. J.S. Afr. vet. med. Ass. 36, 79.

CLEMENS, E.T. y JOHNSON, R.R. (1973a). Biuretolytic activity of rumen microorganisms as influenced by the frequency of feeding biuret supplements. J. Anim. Sci. 37, 1027.

CLEMENS, E.T. y JOHNSON, R.R. (1973b). Influence of dietary nitrogen source, concentrate level and biuret level in sheep on the adaptation of rumen microorganisms biuret as a non protein nitrogen source. J. Nutr. 103, 1406.

COOMBE, J.B., DINIUS, D.A. y WHEELER, W.E. (1979). Effect of alkali-treatment on intake and digestion of barley-straw by beef steers. J. Anim. Sci. 49, 169.

DONALDSON, E., EDWARDS, R.A. y PRESCOTT, J.H.D. (1976).

Chemically treated straw. Edinburgh School of Agriculture. Ann. Report 1975, pag. 77.

DONEFER, E. (1968). Effect of sodium hydroxide treatment on the digestibility and voluntary intake of - straw. Proc. 2nd Wld Conf. on Anim. Prod., Univ. Maryland, pag. 446.

DONEFER, E., ADELEYE, I.O.A. y JONES, T.A.O.C. (1969). Effect of urea supplementation on the nutritive value of NaOH-treated oat straw. En Cellulases and their application. Advances in Chemistry - Series No. 95, pag. 328.

EGAN, A.R. (1965). 2. The influence of sustained duodenal infusions of casein or urea upon voluntary intake of low-protein roughages by sheep. 3. The relationship between improvement of nitrogen status and increase in voluntary intake of low-protein roughages by sheep. 4. The influence of protein supplements upon acetate and propionate tolerance of sheep fed on low quality chaffed oaten hay. Aust. J. Agric. Res. 16, 451, 463, 473.

ELLIOTT, R.C. y TOPPS, J.H. (1963). Voluntary intake of low protein diets by sheep. Anim. Prod. 5, 269.

EWAN, R.C., HATFIELD, E.E. y GARRIGUS, U.S. (1958). The effect of certain inoculations on the utilization of urea or biuret by growing lambs. J. Anim. Sci. 17, 298.

FAHEY, G.C., Jr., McLAREN, G.A. y WILLIAMS, J.E. (1979).

Lignin digestibility by lambs fed both low quality and high quality roughages. *J. Anim. Sci.* 48, 941.

FARLIN, S.D., BROWN, R.E. y GARRIGUS, U.S; (1968a). In vivo metabolism of biuret and urea by sheep. *J. Anim. Sci.* 27, 771.

FARLIN, S.D., GARRIGUS, U.S. y HATFIELD, E.E. (1968b). Changes in metabolism of biuret during adjustment to a biuret-supplemented diet. *J. Anim. Sci.* 27, 785.

FEIST, W.C., BAKER, A.J. y TARKOW, H. (1970). Alkali requirements for improving the digestibility of hardwoods by rumen micro-organisms. *J. Anim. Sci.* 30, 832.

FERNANDEZ, E. y GONZALEZ, V. (1979). Nota sobre el valor nutritivo de la paja de cebada tratada con NaOH. *Pastos* 9, 101.

FERNANDEZ CARMONA, J. y GREENHALGH, J.F.D. (1972). The digestibility and acceptability to sheep of chopped or milled barley straw soaked or sprayed with alkali. *J. agric. Sci., Camb.* 78, 477.

FICK, K.R., AMMERMAN, C.B., MCGOWAN, C.H., LOGGINS, P.F. y CORNELL, J.A. (1973). Influence of supplemental energy and biuret nitrogen on the utilization of low quality roughage by sheep. *J. Anim. Sci.* 36, 137.

FLIPOT, P., MOWAT, D.N., PARKINS, J.J. y BUCHANAN-SMITH,

- J.G. (1976). Ensiling characteristics of silages treated with sodium hydroxide. *Can. J. Plant. - Sci.* 56, 935.
- FONNESBECK, P.V., HARRIS, L.E. y KEARL, L.C. (1971). Self-fed biuret mineral supplements for cattle. *Proc. Western Sect. Anier. Soc. Anim. Sci.* 22, 161.
- FONNESBECK, P.V., KEARL, L.C. y HARRIS, L.E. (1975). Feed grade biuret as a protein replacement for ruminants. *J. Anim. Sci.* 40, 1150.
- GAILLARD, B.D.E. y RICHARDS, G.N. (1975). Presence of soluble lignin-carbohydrate complexes in the bovine rumen. *Carbohydrate Res.* 42, 135.
- GAITHER, W., GARRIGUS, U.S., FORBES, R.M. y HATFIELD, E. E. (1955). Biuret as a source of NPN for sheep. *J. Anim. Sci.* 14, 1203.
- GARRET, W.N., WALTER, H.G., KOHLER, G.O. y HART, M.R. (1979). Response of ruminants to diets containing sodium hydroxide or ammonia treated rice straw. *J. Anim. Sci.* 48, 92.
- GARRIGUS, U.S. (1970). The need for sulfur in the diet of ruminants. En *Symposium: Sulfur in Nutrition.* (O.H. Muth. y J.E. Oldfield, ed). Westport Connecticut: AVI Publishing Co.
- GHARIB, F.H., GOODRICH, R.D., MEISKE, J.C. y EL SERAFY, A.M. (1975a) Effects of grinding and sodium hydroxide treatment on poplar bark. *J. Anim. Sci.* 40, 727.

- GHARIB, F.H., MEISKE, J.C., GOODRICH, R.D. y EL SERAFY, A.M. (1975b). In vitro evaluation of chemically treated poplar bark. *J. Anim. Sci.* 40, 734.
- GIHAD, E.A. (1979). Intake, digestibility and nutrient utilization by sheep of sodium hydroxide-treated tropical grass supplemented with soybean or urea. *J. Anim. Sci.* 48, 1172.
- GILCHRIST, F.M., POTGIETER, C.E. y VOSS, J.B.N. (1968). The biuretolytic activity of the ruminal flora of sheep fed practical rations containing biuret. *J. agric. Sci., Camb.* 70, 157.
- GLOVER, J. y DOUGALL, H.W. (1960). The apparent digestibility of the non-nitrogenous components of ruminants feeds. *J. agric. Sci., Camb.* 55, 391.
- GONZALEZ SANTILLANA, R. (1978). Valor nutritivo de la paja de cereal y su mejora mediante tratamiento con alcali. En Nuevas fuentes de alimentos para la producción animal. (A. Gómez Cabrera y J.L. García de Siles, ed.). E.T.S.I.A. Córdoba, pag. 165.
- GRANT, R.J., VAN SOEST, P.J., McDOWELL, R.E. y PEREZ, C. B., Jr. (1974). Intake, digestibility and metabolic loss of napier grass by cattle and buffaloes when fed wilted, chopped and whole. *J. Anim. Sci.* 39, 423.
- GREENHALGH, J.F.D. (1976). Improving the nutritive value of straw by alkali treatment. *A.R.C. Res. Rev.* 2, 67.

- GREENHALGH, J.F.D. (1978). Feeding value improvement of by-products: chemical treatments. En Nuevas - fuentes de alimentos para la producción animal. (A. Gomez Cabrera y J.L. Garcia de Siles, ed). E.T.S.I.A. Córdoba, pag. 274.
- GREENHALGH, J.F.D. y REID, G.W. (1967). Separating the effects of digestibility and palatability on food intake in ruminant animals. *Nature*, 214, 744.
- GREENHALGH, J.F.D., PIRIE, R. y REID, G.W. (1976). Alkali-treated barley, straw in complete diets for lambs and dairy cows. *Anim. Prod.* 22, 159 (Abstr.).
- GREENHALGH, J.F.D., PIRIE, R. y SHIN. H.T. (1978a). Nutri- tive value of barley straw ensiled after alkali treatment. *Anim. Prod.* 26, 400.
- GREENHALGH, J.F.D., PIRIE, R., SHIN, H.T. y STEWART, C.S. (1978b). Alkali-treatment of straw for ruminants. II. Nutritive value of straw ensiled after alkali treatment. *Anim. Feed Sci. Technol.* 3, 289.
- GUGGOLZ, J., McDONALD, G.M., WALKER, H.G., Jr., GARRET, W.N. y KOHLER, G.O. (1971). Treatment of farm wastes for livestock feed. *J. Anim. Sci.* 33, 284 (Abstr.).
- HARRIS, L.E. y MITCHELL, H.H. (1941a). The value of urea in the synthesis of protein in the paunch of the ruminant. I. In maintenance. *J. Nutr.* 22, 167.
- HARRIS, L.E. y MITCHELL, H.H. (1941b). The value of urea in the synthesis of protein in the paunch of the

- ruminant. II. In growth. *J. Nutr.* 22, 183.
- HART, E.B., BOHSTEDT, G., DEOBALD, H.J. y WEGNER, I.M. (1939). The utilization of simple nitrogenous compounds such as urea and ammonium bicarbonate by growing calves. *J. Dairy Sci.* 22, 785.
- HARTLEY, R.D. y JONES, E.C. (1978). Effect of aqueous ammonia and other alkalis on the in vitro digestibility of barley straw. *J. Sci. Fd. Agric.* 29, 92.
- HATFIELD, E.E., GARRIGUS, U.S., FORBES, R.M., NEUMAN, A. L. y GAITHER, W. (1959). Biuret a source of NPN for ruminants. *J. Anim. Sci.* 18, 1208.
- HOPSON, J.D., JOHNSON, R.R. y DEHORITY, B.A. (1963). Evaluation of the dracon bag technique as a method for measuring cellulose digestibility and rate of forage digestion. *J. Anim. Sci.* 22, 448.
- HOTEK, W., HENNWALD, K.H., BERGER, G., KANITZ, W., ENGELMAN, W. y SCHMIDT, W. (1974). Results on long-term storage and consumption of lye-treated straw. *Tierzuch.* 28, 365.
- HUBER, J.T. y COOK, R.M. (1969). Site of intake depression on high urea diets. *J. Dairy Sci.* 52, 942 (Abstr.
- HULL, J.L., GARRET, W.N. y MORRIS, J.G. (1971). Wintering beef steers on low quality roughages with nitrogen supplements. *Calif. Agr.* 25, 10.
- IWATA, H., KOBAYASHI, K., SHINO, S. y MATSUOKA, M. (1961)





- Behaviour of urea and its derivatives in animal bodies. Nippon Nugei Kagaku Kaishi 35, 1046.
- JACKSON, M.G. (1977). The alkali treatment of straws. - Anim. Feed Sci. Technol. 2, 105.
- JAYASURIYA, M.C.N. (1979). Sodium hydroxide treatment of rice straw to improve its nutritive value for ruminants. Trop. Agric. Trin. 56, 75.
- JAYASURIYA, M.C.N. y OWEN, E. (1975). Sodium hydroxide - treatment of barley straw; effect of volume and concentration of solution on digestibility and intake by sheep. Anim. Prod. 21, 313.
- JENSEN, H.L. y SCHRODER, M. (1965). Urea and biuret as nitrogen sources for Rhizobium spp. J. Appl. Bact. 28, 473.
- JOHNSON, R.R. y CLEMENS, E.T. (1973). Adaptation of rumen microorganisms to biuret as a NPN supplement to low quality roughage rations for cattle and sheep. J. Nutr. 103, 494.
- JOHNSON, R.R. y McCLURE, K.E. (1963). In vitro and in vivo studies on the adaptation of sheep to biuret. J. Anim. Sci. 22, 1123 (Abstr.).
- JONES, M.J. y KLOPFENSTEIN, T.J. (1967). Chemical treatments of poor quality roughages. J. Anim. Sci. 26, 1492 (Abstr.).
- KARR, M.R., GARRIGUS, U.S., HATFIELD, E.E. y NORTON, H.W. (1965). Nutritional and chemical evaluation

of urea and biuret in complete ensiled finishing diets by lambs. *J. Anim. Sci.* 24, 469.

KATEGILE, J.A. (1979). Performance of heifers fed on diets based on NaOH-treated maize cobs and the effect of supplementary urea and source of carbohydrates. *Anim. Feed Sci. Technol.* 4, 97.

KATEGILE, J.A. y FREDERIKSEN, J.H. (1979). Effect of level of sodium hydroxide treatment and volume of solution on the nutritive value of maize. *Anim. Feed Sci. Technol.* 4, 1.

KELLAWAY, R.C., CROFTS, F.C., THIAGO, L.R.L., REDMAN, R. G., LEIBHOLZ, J.M.L. y GRAHAM, C.A. (1978). A new technique for upgrading the nutritive value of roughages under field conditions. *Anim. Feed Sci. Technol.* 3, 201.

KLOPFENSTEIN, T.J. (1978). Chemical treatment of crop residues. *J. Anim. Sci.* 46, 841.

KLOPFENSTEIN, T.J., KRAUSE, V.E., JONES, M.J. y WOODS, W. (1972). Chemical treatment of low quality roughages. *J. Anim. Sci.* 35, 418.

KOERS, W.C., KLOPFENSTEIN, T.J. y WOODS, W. (1969). Sodium hydroxide treatment of corn cobs. *J. Anim. Sci.* 29, 163 (Abstr.).

KOERS, W.C., WOODS, W. y KLOPFENSTEIN, T.J. (1970). Sodium hydroxide treatment of corn stover and cobs. *J. Anim. Sci.* 31, 1030 (Abstr.).

- KONDOS, A.C. (1975). Studies on the adaptation of the rumen to the hydrolisis of biuret in cattle. *J. Anim. Sci.* 85, 351.
- KONDOS, A.C. y MUTCH, C.B. (1975). Biuret and urea in maintenance and production diets for cattle. *J. - agric. Sci., Camb.* 85, 359.
- KREFT, H.W. (1963). Feeding urea to cattle. *Proc. S. Afr. Soc. Anim. Prod.* 2, 43.
- LEHMANN, F. (1895). *Landw. Jbr.* 24, *Erganzungab ND, I.* Citado por Ørskov (1979).
- LEWIS, D., HILL, K.J. y ANNISON, E.F. (1957). Studies on the portal blood of sheep. 1. Absorption of ammonia from the rumen of the sheep. *Biochem. J.* 66, 587.
- LIVINGSTON, H.G., PAYNE, W.J.A. y FRIEND, M.T. (1962). Urea excretion in ruminants. *Nature* 194, 1057.
- MAENG, W.J., MOWAT, D.N. y BILANSKI, W.K. (1971). Digesti**bi**lity of NaOH-treated straw fed alone or in combination with alfalfa silage. *Can. J. Anim. Sci.* 51, 743.
- MARSHALL , S.P. y VAN HORN, H.H. (1975). Complete rations for dairy cattle. II. Sugarcane bagasse pellets as the roughage in blended rations for lactating cows. *J. Dairy Sci.* 58, 896.
- MARTIN, P.C., CRIBEIRO, T.C., CABELLO, A. y ELIAS, H. - (1974). The effect of sodium hydroxide and pre-

ssure on the dry matter digestibility of bagasse and bagasse pith. Cuban J. agric. Sci. 8, 21.

MATHEWS, M.G. y McMANUS, W.R. (1976). Studies on forage cell walls. Alkali-treated lucerne. J. agric. Sci., Camb. 87, 485.

McDOUGALL, E.I. (1948). Studies on ruminant saliva. 1. The composition and output of sheep's saliva. Biochem. J. 43, 99.

McKENZIE, H.I. y ALTONA, R.E. (1964). Biuret as a supplement to roughage rations for sheep and cattle. J.S. Afr. vet. med. Ass. 35, 301.

McLAREN, G.A., ANDERSON, G.C., WELCH, J.A., CAMPBELL, C. D. y SMITH, G.S. (1959). Diethylsbestrol and length of preliminary period in the utilization of crude biuret and urea by lambs. J. Anim. Sci. 18, 1319.

McLAREN, G.A., ANDERSON, G.C., WELCH, J.A., CAMPBELL, C. D. y SMITH, G.S. (1960). Diethylsbestrol and length of preliminary period in the utilization of crude biuret and urea by lambs. II. Various aspects of nitrogen metabolism. J. Anim. Sci. 19, 44.

McMANUS, W.R. y CHOUNG, C.C. (1976). Studies on forage - cell walls. Conditions for alkali treatment of - rice straw and rice hulls. J. agric. Sci. Camb. 86, 453.

McMANUS, W.R., CHOUNG, C.C. y ROBINSON, V.N.E. (1976). Studies on forage cell walls. Flow and degrada-

tion of alkali-treated rice hull digesta in the ruminant digestive tract. J. agric. Sci., Camb. 87, 471.

MEHMET, E.A. (1972). Improving the available energy value of barley straw by treatment with sodium hydroxide. Tesis Doctoral. Univ. Aberdeen.

MEISKE, J.C., VAN ARSDELL, W.I., LUECKE, R.W. y HOEFER, J.A. (1955). The utilization of urea and biuret as sources of nitrogen for growing-fattening lambs. J. Anim. Sci. 14, 941.

MELLENBERGER, R.W., SATTER, L.D., MILLETT, M.A. y BAKER, A.J. (1971). Digestion of aspen, alkali-treated aspen and aspen bark by goats. J. Anim. Sci. 32, 756.

MILLER, E.L. (1973). Evaluation of food as sources of nitrogen and amino-acids. Proc. Nutr. Soc. 32, 79.

MILLER, E.L., BALCH, C.C., ØRSKOV, E.R., ROY, J.H.B. y SMITH, R.H. (1977). Comparison of calculated N requirements for ruminants with the results of practical feeding trials. Proc. 2nd Int. Symp. on Protein Metabolism and Nutrition. Pudoc. Wageningen, pag. 137.

MINSON, D.J. (1967). The voluntary intake and digestibility, in sheep, of chopped and pelleted *Digitaria decumbens* (pangola grass) following a late application of fertilizer nitrogen. Br. J. Nutr. 21, 587.

- MINSON, D.J. (1971). The influence of lignin and silicon dioxide on a summative system for assessing the organic matter digestibility of panicum. Aust. J. Agr. Res. 22, 589.
- MOIR, R.J. y HARRIS, L.E. (1962). Ruminant flora studies in the sheep. X. Influence of nitrogen intake upon ruminal function. J. Nutr. 77, 285.
- MORGAN, J.H.L. y BEHRENS, W.C. (1978). Live-weight responses by young Friesian steers to supplements of oats, linseed meal and biuret. J. agric. Sci., Camb. 91, 761.
- MORRIS, E.J. y BACON, J.S.D. (1976). Digestion of acetyl groups and cell-wall polysaccharides of grasses in the rumen. Proc. Nutr. Soc. 35, 94 A.
- MOWAT, D.N. (1971). NaOH-stover or straw silage in growing rations. J. Anim. Sci. 33, 1155 (Abstr.).
- NAS, (1971). Nutrient requirements of domestic animals. No 3. Nutrient requirements of dairy cattle. Washington, DC: National Academy of Sciences.
- NISHIHARA, H., SHOJI, K. y HORI, M. (1965). Studies on the biuret hydrolyzing enzyme from Mycobacterium ranae. Biken's J. 8, 23.
- NOLAN, J.V. y LENG, R.A. (1972). Dynamic aspects of ammonia and urea metabolism in sheep. Br. J. Nutr. 27, 177.
- OJI, U., MOWAT, D.N., WINCH, J.E. y BUCHANAN-SMITH, J.G.

- (1976). Alkali treatments of corn stover. *J. Anim. Sci.* 42, 1366 (Abstr.).
- OLDHAM, J.D., BUTTERY, P.J., SWAN, H. y LEWIS, D. (1977). Interactions between dietary carbohydrate and nitrogen and digestion in sheep. *J. agric. Sci., Camb.* 89, 467.
- LOLADE, B.G. y MOWAT, D.N. (1975). Influence of whole plant barley reconstituted with sodium hydroxide on digestibility, rumen fluid and plasma metabolism of sheep. *J. Anim. Sci.* 40, 351.
- LOLADE, B.G., MOWAT, D.N. y WINCH, J.E. (1970). The effect of processing methods on the in vitro digestibility of sodium hydroxide-treated roughage. *Can. J. Anim. Sci.* 50, 657.
- LOLADE, B.G., MOWAT, D.N., YAO, Y.T. y SMITH, G.C. (1972). Sodium hydroxide-treated diet and body fluids parameters. *J. Anim. Sci.* 35, 232 (Abstr.).
- OLTJEN, R.R. (1972). Development and status of NPN usage of ruminants. *Proc. Mont. Nutr. Conf. Mont. State Univ. Bozeman* 23, 30.
- OLTJEN, R.R., WILLIAMS, E.E., Jr., SLYTER, L.L. y RICHARDSON, G.V. (1969). Urea versus biuret in a roughage diet for steers. *J. Anim. Sci.* 29, 816.
- ØRSKOV, E.R. (1979). Alkali treatment of straw and grain. *Rep. Rowett Inst.* 35, 109.
- ØRSKOV, E.R. y GRUBB, D.A. (1978). Validation of new sys

- tems for protein evaluation in ruminants by testing the effect of urea supplementation on intake and digestibility of straw with or without sodium hydroxide treatment. *J. agric. Sci., Camb.* 91, 483.
- ØRSKOV, E.R., FRASER, C. y McDONALD, I. (1972). Digestion of concentrates in sheep. 4. The effects of urea on digestion, nitrogen retention and growth in young lambs. *Br. J. Nutr.* 27, 491.
- OSBOURN, D.F. (1978). Principles governing the use of chemical methods for assessing the nutritive value of forages: A review. *Anim. Feed Sci. Technol.* 3, 265.
- OWEN, E. (1976). Farm wastes: straw and other fibrous materials. En Food production and consumption. (A.N. Duckham, J.G.W. Jones y E.H. Roberts ed). Amsterdam: North Holland P.C., pag. 299.
- PIATKOWSKI, B., BOLDUAN, G., ZWIERZ, P. y LENGERKEN, J.V. (1974a). Untersuchungen zum Aufschluss von Getreidestroh. 4. Beziehungen zwischen der NaOH-Konzentration im behandelten Stroh, dem Saurefallbaren Ligninanteil und der Verdaulichkeit in vivo und in vitro. *Arch. Tierernähr.* 24, 513.
- PIATKOWSKI, B., SCHMIDT, L., WEISSBACH, F., VOIGT, J., PETERS, G. y PRYM, R. (1974b). Untersuchungen zum Aufschluss von Getreidestroh mit Natronlauge. 6. Die Wirkung einer Einsilierung von NaOH-behandeltem Stroh und Grünmais auf die Silagequalität.



- lität Pansenfermentat on und Verdaulichkeit.  
Arch. Tierernahr. 24, 701.
- PIGDEN, W.J. y HEANEY, D.P. (1969). Lignocellulose in ru  
minant nutrition. En Cellulases and their appli  
cations. (R.F. Gould, ed). Washington, D.C.: Am.  
Chem. Soc., pag. 245.
- PIRIE, R. y GREENHALGH, J.F.D. (1978). Alkali treatment  
of straw for ruminants. I. Utilization of com-  
plete diets containing straw by beef cattle.  
Anim. Feed Sci. Technol. 3, 143.
- PIVA, G. (1964). Possibility of employing biuret in the  
feed of ruminants. Annali Fac. Agr. Univ. Bari  
4, 365.
- PRESTON, T.R. (1972). Fattening beef cattle on molasses  
in the tropics. UN FAO World Anim. Rev. No 1,  
pag. 24.
- RAHAL, M.S. y NAIK, D.G. (1976). Improvement in the nutri  
tive value of paddy straw by supplementation. En  
Improved utilisation of agricultural waste mate-  
rials and industrial by-products as livestock -  
feed. Research Progress Report 1975-1976. G.B. -  
Pant Univ. Pantnagar, pag. 52.
- RALEIGH, R.J. y TURNER, H.A. (1968). Biuret and urea in  
cattle supplements. Proc. Western Sect. Amer.  
Soc. Anim. Sci. 19, 301.
- RALEIGH, R.J. y WALLACE, J.D. (1963). Effect of urea at  
different nitrogen levels on digestibility and

- on performance of growing steers fed low quality flood meadow roughage. *J. Anim. Sci.* 22, 330.
- RANDEL, P.F. (1972). A comparison of the digestibility of two complete rations containing either raw or alkali-treated sugarcane bagasse. *J. Agric. Univ. P. Rico* 56, 18.
- RANDEL, P.F., RAMIREZ, A., CARRERO, R. y VALENCIA, I. - (1972). Alkali-treated and raw sugarcane bagasse as roughages in complete rations for lactating cows. *J. Dairy Sci.* 55, 1492.
- RAYMOND, W.F. (1969). The nutritive value of forage crops. *Adv. Agron.* 21, 1.
- REPP, W.W., HALE, W.H. y BURROUGHS, W. (1955). The value of several non-protein nitrogen compounds as protein substitutes in lamb fattening rations. *J. Anim. Sci.* 14, 901.
- REXEN, F. y THOMSEN, K.V. (1976). The effect on digestibility of a new technique for alkali treatment of straw. *Anim. Feed Sci. Technol.* 1, 73.
- ROY, J.B.H., BALCH, C.C., MILLER, E.L., ØRSKOV, E.R. y SMITH, R.H. (1977). Calculation of N requirements for ruminants from nitrogen metabolism studies. *Proc. 2nd. Int. Symp. on Protein Metabolism and Nutrition. Pudoc, Wageningen*, pag. 126.
- SATTER, L.D. y ROFFLER, R.E. (1973). Using NPN in dairy cow ration. *Proc. 34th Minnesota Nutr. Conf.*

- SATTER, L.D. y SLYTER, L.L. (1974). Effect of ammonia concentration on rumen microbial protein production in vitro. Br. J. Nutr. 32, 199.
- SAXENA, S.K., OTTERBY, D.E., DONKER, J.D. y GOOD, A.I. (1971). Effects of feeding alkali-treated oat straw supplemented with soybean meal or non-protein nitrogen on growth of lambs and on certain blood and rumen liquor parameters. J. Anim. Sci. 33, 485.
- SCHAADT, H., Jr., JOHNSON, R.R. y McCLURE, K.E. (1966). Adaptation to and palatability of urea, biuret and diammonium phosphate as NPN sources for ruminants. J. Anim. Sci. 25, 73.
- SCHRODER, H.H.E. (1970). Pathways for the elimination of biuret in sheep. J. agric. Sci., Camb. 75, 231.
- SCHRODER, H.H.E. y GILCHRIST, F.M. (1969). Adaptation of the bovine ruminal flora to biuret. J. agric. - Sci. Camb. 72, 1.
- SHARMA, S.D. (1974). A study of roughage silica solubility. Tesis Doctoral. G.B. Pant Univ., Pantnagar.
- SHARMA, S.D. y JACKSON, M.G. (1975). The effect of sodium hydroxide treatment on the composition and digestibility of cell-walls. En Improved utilisation of agricultural waste materials and industrial by-products as livestock feed. Research Progress Report 1969-1974. G.B. Pant Univ., Pantnagar, pag. 16.

- SHIN, H.T., GARRIGUS, U.S. y OWENS, F.N. (1975). NaOH-treated wheat straw rations for sheep. *J. Anim. Sci.* 41, 417 (Abstr.).
- SHULTZ, T.A. y RALSTON, A.T. (1974). Effect of various additives on nutritive value of ryegrass straw silage. II. Animal metabolism and performance observations. *J. Anim. Sci.* 39, 926.
- SHULTZ, E., CHICCO, C.F., SHULTZ, T.A. y GARBATI, S.T. (1974a). Urea, biuret y su combinación como suplementos de nitrógeno para bovinos. *Agronomía trop.* 24, 149.
- SHULTZ, E., CHICCO, C.F., CAÑAS, L.E. y SHULTZ, T.A. (1974b). Urea, biuret y su combinación como suplemento de nitrógeno para ovinos. *Agronomía trop.* 24, 493.
- SHULTZ, T.A., RALSTON, A.T. y SHULTZ, E. (1974). Effect of various additives on nutritive value of ryegrass straw silage. I. Laboratory silo and in vitro dry matter digestion observations. *J. Anim. Sci.* 39, 920.
- SINGH, M. y JACKSON, M.G. (1971). The effect of different levels of sodium hydroxide spray treatment of wheat straw on consumption and digestibility by cattle. *J. agric. Sci., Camb.* 77, 5.
- SINGH, M. y JACKSON, M.G. (1975). The effect of different levels of sodium hydroxide spray-treatment of paddy straw on its digestibility and voluntary intake. En *Improved utilisation of agricultural* -

waste materials and industrial by-products as livestock feed. Research Progress Report 1969-1974. G.B. Pant Univ., Pantnagar, pag. 45.

- SMITH, T., BROSTER, W.H., BROSTER, J.V. y SIVITER, J.W. (1981). The effects of grinding, either with or without NaOH treatment, on the utilization of straw by yearling dairy cattle. J. agric. Sci., Camb. 96, 159.
- SNEDECOR, O.W. (1964). Métodos estadísticos. 1ª Edición Compañía Editorial Continental. Mexico.
- SOMERS, M. (1961). Factors influence of nitrogen intake upon blood nitrogen and upon the total nitrogen and urea nitrogen in the parotid saliva of sheep. Aust. J. exp. Biol. 39, 123.
- STIGSEN, P. (1975). Kulhydrat kildens og neutralisationens betydning for udnyttelse af natriumhydroxydbehandlet halm hos malkekøer. Licentia tafhandling, Den kongelige Veterinaer-og Landbohøjskole, Copenhague.
- STONE, E.J., MORRIS, H.F., Jr., GLENN, J.C. y KELLER, A.G. (1966). Digestibility of chemically treated bagasse and rice straw. J. Anim. Sci. 25, 915 (Abstr.).
- SUMMERS, C.B. y SHERROD, L.B. (1975). Sodium hydroxide treatment of different roughages. J. Anim. Sci. 41, 420 (Abstr.).
- SUNDSTØL, F., COXWORTH, E. y MOWAT, D.N. (1978). Improving the nutritive value of straw and other low-quality roughages by treatment with ammonia. Wld. Anim.

Rev. 26, 13.

TARKOW, H. y FEIST, W.C. (1969). A mechanism for improving digestibility of lignocellulose materials with dilute alkali and liquid ammonia. En Celluloses and their applications. Advances in Chemistry, series 95. Washington, D.C.:Amer.Chem. Soc., pag. 197.

TEMPLENTON, J.A. (1972). Self-feeding biuret, minerals and grain to cattle. Proc. Western Sect. Amer. Soc. Anim. Sci. 23, 362.

TEMPLENTON, J.A., SWART, R.W. y BUCEK, O.C. (1970). Use of biuret in liquid supplements for ruminants. Proc. Western Sect. Amer. Soc. Anim. Sci. 21, 183.

TERRY, R.A., SPOONER, M.G. y OSBOURN, D.F. (1975). The feeding value of mixture of alkali-treated straw and grass silage. J. agric. Sci., Camb. 84, 373.

THOMAS, O.O. y ARMITAGE, J. (1972). NPN utilization as affected by feeding interval. Proc. Western Sect. Amer. Soc. Anim. Sci. 23, 351.

THOMSEN, K.V., REXEN, F. y KRISTENSEN, V.F. (1973). Experiments with NaOH treatment of straw. 1. Influence of treatment on digestibility of the straw. Ugeskr. Agron. Hort. 2, 436.

TILLEY, J.M.A. y TERRY, R.A. (1963). A two stage technique for the in vitro digestion of forage crops. J. Br. Grassl. Soc. 18, 104.

TIWARI, A.D., OWENS, F.N. y GARRIGUS, U.S. (1973a). Meta-

bolic pathway of biuret degradation and formation of biuret-complex in the rumen. J. Anim. Sci. 37, 1390.

TIWARI, A.D., OWENS, F.N. y GARRIGUS, U.S. (1973b). Metabolism of biuret by ruminants: In vivo and in vitro studies and the role of protozoa in biuretoly<sup>u</sup>sis. J. Anim. Sci. 37, 1396.

TOLLETT, J.T., SWART, R.W., IOSET, R.M. y TEMPLENTON, J.A. (1969). Biuret as a nitrogen source for wintering steers. Proc. Western Sect. Amer. Soc. Anim. Sci. 20, 325.

TURNER, H.A. y RALEIGH, R.J. (1969). Biuret and urea for growing cattle. Proc. Western Sect. Amer. Soc. Anim. Sci. 20, 331.

VAN ES, A.J.H. y VAN DER MEER, J.M. (1980). Methods of analysis for predicting the energy and protein value of feeds for farm animals. 31st Annual Meeting E. A.A.P., Munich.

VAN HORN, J.L., THOMAS, O.O., DRUMMOND, J. y BLACKWELL, R. L. (1969). Biuret and urea in supplements for range ewes. Proc. Western Sect. Amer. Soc. Anim. Sci. 20, 319.

VAN SOEST, P.J. (1963). The use of detergents in the analysis of fibrous feeds. II. A rapid method for the determination of fibre and lignin. J. Assoc. Off. Agric. Chem. 46, 829.

VAN SOEST, P.J. (1964). Symposium on nutrition and forage and pastures; new chemical procedures for evaluating forages. J. Anim. Sci. 23, 838.

- VAN SOEST, P.J. (1965). Symposium on factors influencing the voluntary intake of herbage by ruminants: voluntary intake in relation to chemical composition and digestibility. J. Anim. Sci. 24, 834.
- VAN SOEST, P.J. y JONES, L.H.P. (1968). Effect of silica in forages upon digestibility. J. Dairy Sci. 51, 1644.
- VAN SOEST, P.J. y McQUEEN, R.W. (1973). The chemistry and estimation of fibre. Proc. Nutr. Soc. 32, 123.
- VAN SOEST, P.J. y WINE, R.H. (1967). Use of detergents in the analysis of fibrous feeds. IV. Determination of plant cell-wall constituents. J. Assoc. Off. Agric. Chem. 50, 50.
- VERMA, M.L. y JACKSON, M.G. (1975). The comparative effectiveness of sodium hydroxide and calcium oxide in increasing the in vitro, nylon-bag digestibility of various roughages. En Improved utilisation of agricultural waste materials and industrial by-products as livestock feed. Research Progress - Report 1969-1974. G.B. Pant Univ., Pantnagar, pag. 14.
- VOIGT, J. y PIATKOWSKI, B. (1974). Untersuchungen zum Abschluss von Getreidestroh. 5. Die Wirkung des Natriums im NaOH-behandelten Stroh auf die Zusammensetzung von Blut und Harn sowie auf die Exkretion verschiedener Verbindungen. Arch. Tierernähr. 24, 589.
- WAAGEPETERSEN, J. y THOMSEN, K.V. (1977). Effect on diges



tibility and nitrogen content of barley straw of different ammonia treatments. Anim. Feed. Sci. - Technol. 2, 131.

WELCH, J.A., ANDERSON, G.C., McLAREN, G.A., CAMPBELL, C.D. y SMITH, G.S. (1957). Time, diethylstilbestrol - and vitamin B<sub>12</sub> in the adaptation of lambs to NPN utilization. J. Anim. Sci. 16, 1034 (Abstr.).

WHISTLER, R.L. y TENG, J. (1970). Cellulose chemistry. En Handbook of pulp and paper technology. 2nd edition. (K.W. Britt. ed.). New York: Van Nostrand Reinhold Company, pag. 13.

WILKINSON, J.M. (1977). Ensiling alkali treated straw. Report on Straw Utilization Conference, Agricultural Development and Advisory Service, Oxford, pag. 32.

WILKINSON, J.M. (1978). Laboratory evaluation of ensiled mixtures of alkali-treated cattle excreta and - whole-crop maize. Anim. Feed Sci. Technol. 3, 335.

WILKINSON, J.M. y GONZALEZ SANTILLANA, R. (1978a). Ensiled alkali-treated straw. I. Effect of level and type of alkali on the composition and digestibility in vitro of ensiled barley straw. Anim. Feed Sci. - Technol. 3, 117.

WILKINSON, J.M. y GONZALEZ SANTILLANA, R. (1978b). Ensiled alkali treated straw. II. The nutritive value for young beef cattle of mixtures of ensiled or frozen alkali-treated straw and ryegrass silage. -- Anim. Feed Sci. Technol. 3, 133.

- WILSON, R.K. y PIGDEN, W.J. (1964). Effect of a sodium hydroxide treatment on the utilisation of wheat straw and poplar wood by rumen microorganisms. *Can. J. Anim. Sci.* 44, 122.
- WINTER, K.A. y PIGDEN, W.J. (1971). Some effects of ruminal infusions of urea and urea-sucrose on utilization of oat straw by cows. *Can. J. Anim. Sci.* 51, 777.
- WOOLFORD, M.K. (1976). A preliminary investigation into the role of yeast in the ensiling process. *J. Appl. Bacteriol.* 41, 29.
- WORK, S.H. y HENKE, L.A. (1940). The value of urea as a protein supplement replacement for dairy heifers. *Proc. Amer. Soc. Anim. Prod.* 39, 404.
- YU, Y., THOMAS, J.W. y EMERY, R.S. (1975). Estimated nutritive value of treated forages for ruminants. *J. Anim. Sci.* 41, 1742.