



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MÉXICO

CENTRO UNIVERSITARIO UAEM TEMASCALTEPEC

LICENCIATURA DE INGENIERO AGRÓNOMO ZOOTECNISTA

**PRODUCCIÓN DE LECHE Y PERFIL DE ÁCIDOS GRASOS DE
CABRAS ALPINO FRANCÉS SUPLEMENTADAS CON ENZIMAS
FIBROLITICAS EXÓGENAS**

TESIS

**QUE COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL TITULO DE
INGENIERO AGRONOMO ZOOTECNISTA**

PRESENTA:

BLADEMIR ACUÑA TAVIRA

DIRECTOR:

Dr. ROLANDO ROJO RUBIO

ASESOR:

Dr. en CARN. FERNANDO VÁZQUEZ ARMIJO

Temascaltepec, México, Diciembre 20 del 2017

AGRADECIMIENTOS

A Dios y la Virgen de Guadalupe por darme fe y esperanza para luchar y alcanzar esta meta muy importante en mi vida y por darme la fuerza necesaria para no rendirme.

De manera muy especial agradezco a:

Lucia Tavira Cabrera: Por el apoyo moral y economico brindado durante la realizacion de mis estudios profesionales y por todos los consejos que incondicionalmente me brinda siempre.

Rocio Martinez Hernandez: Por aceptar ser mi compañera de vida, por todo su apoyo moral y por darme la gran dicha de ser papa, de tres hermosos hijos Ximena Acuña Martínez, Vladimir Acuña Martínez y Belinda Acuña Martínez, cada uno de ellos le da un gran impulso a mi vida para seguir adelante luchando por ellos.

Hermanos: Gaudencia A Tavira, Orbelin A Tavira, Carolina A Tavira y Helmer Yair A Tavira por todo el apoyo moral y economico brindado durante mis estudios

Dr. Rolando Rojo Rubio y Dr. José F. Vázquez Armijo: Por todo el apoyo, los consejos brindados y por regalarme incondicionalmente una pequeñísima parte de sus conocimientos y dejar una huella en mi vida que perdurará por siempre.

A mis amigos: Luis Sebastian Peña Urquiza, Juan Carlos Gomes Ruiz, Uriel Tavira Berrum, Jhonatan Morales Diaz, Eduardo Morales Diaz, Roberto Benites Osorio, Alejandro Mendoza, Daniela García Rebollar, y los compañeros de la licenciatura que aunque no los menciono a todos no los olvido y les agradezco todos los momentos y las alegrías que juntos pasamos.

De manera muy especial quiero agradecer a Gaudencia Acuña Tavira por todo el apoyo economico y moral y por todas esas hermosas frases de aliento que me regalo.

Contenido

INTRODUCCIÓN.....	3
OBJETIVOS.....	5
General.....	5
Específico.....	5
HIPÓTESIS	6
REVISIÓN DE LITERATURA	7
Características generales de la cabra Alpino Francés.....	7
<i>Origen</i>	7
Alimentación.....	7
<i>Sanidad</i>	7
<i>Manejo</i>	8
Características Productivas	8
<i>Producción de leche</i>	8
<i>Calidad de la leche</i>	9
Propiedades nutricionales de la leche de cabra.....	10
Perfil de Ácidos Grasos en leche de cabra.....	11
Enzimas.....	13
Condiciones que afectan la actividad enzimática	15
Cinética enzimática.....	16
Efecto del pH	16
Efecto de la temperatura	17
Enzimas exógenas.....	17
Hemicelulasas	18
Xilanasas.....	18
Importancia de las enzimas en la alimentación de rumiantes	18
Fuentes y uso de las enzimas exógenas en la alimentación de rumiantes	19
Modo de acción de las enzimas exógenas en rumiantes.....	20
Efectos ruminales de las enzimas exógenas	21
Aplicación de enzimas fibrolíticas en rumiantes	22
Efecto de hidrolisis en el rumen.....	24
Actividad microbiana en rumen.....	25
MATERIALES Y MÉTODOS.....	26
Norma oficial Mexicana	26
Ubicación de estudio.....	26
Animales, alojamiento, alimentación.....	27
Tratamientos	29
Análisis de laboratorio	30
VARIABLES DE RESPUESTA	31
<i>Producción de leche</i>	31

<i>Perfil de ácidos grasos</i>	31
Diseño experimental	32
Análisis estadístico	33
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	34
Producción de leche	34
Perfil de ácidos grasos de leche	37
CONCLUSION	40
LITERATURA CITADA.....	41

INTRODUCCIÓN

Durante años la leche de los pequeños rumiantes como cabras y ovejas ha representado un importante ingreso económico en ciertas áreas del mundo, sobre todo en las zonas rurales; en los países en desarrollo la producción de este tipo de leche representa una estrategia muy útil para hacer frente al problema de desnutrición en niños lactantes y ancianos (Haenlein, 1996, 2001, 2004). Por otro lado, la importancia de la leche de ovino y caprino desde el punto de vista nutricional, radica en su contenido de grasa, la cual es rica en ácidos grasos de cadena media (AGCM), tal como caproico, caprírico, caprílico y cáprico; estos ácidos grasos representan 18 % de la grasa en la leche de cabra, (Boza y Sanz Sampelayo, 1997; Chilliard et al., 2006), y a diferencia de los ácidos grasos de cadena larga (AGCL); los AGCM inician su digestión en el estómago, por la acción de la lipasa gástrica, y los AGCL es en duodeno, de tal forma que la hidrólisis de los AGCM es completada por la lipasa pancreática, a una velocidad cinco veces mayor que la de los AGCL (Haenlein, 1996; García, 1996; Boza y Sanz Sampelayo, 1997). Por otra parte, cuanto a los ácidos grasos se refiere, el aspecto más novedoso en relación a la composición de la grasa en la leche de los rumiantes tiene que ver con su contenido de ácido linoleico conjugado (ALC). El ácido linoleico es el principal ácido graso precursor de la síntesis de cis 9, trans11-ALC, como consecuencia de la biohidrogenación que tiene lugar en el rumen, la cual depende directamente de la cantidad y origen de grasa en la dieta, la relación forraje-concentrado y del contenido de nitrógeno en la dieta. Se ha documentado que el ALC tiene propiedades anticancerígenas (Shultz, 1992; Banni et al., 1998; Yu, 2001). Morand et al., (2000) mencionan que el forraje verde influye fuertemente en el contenido de ácidos grasos de la leche, y esto se debe a un aumento de los ácidos grasos poliinsaturados e incrementos del ALC, mediante la biohidrogenación en rumen. Diversos estudios realizados en ganado caprino han demostrado que la utilización de enzimas

fibrolíticas exógenas aumentan la digestibilidad de las dietas con alto contenido de fibra, además de modificar el perfil de ácidos grasos en rumen, que podría tener un efecto sobre el perfil de de ácidos grasos en la leche. Por tal motivo la presente investigación determinó, la producción de leche y el perfil de ácidos grasos en cabras alpino francés suplementadas con enzimas fibrolíticas exógenas.

OBJETIVOS

General

Determinar la producción y perfil de ácidos grasos de la leche en cabras Alpino Francés suplementadas con enzimas fibrolíticas exógenas.

Específico

Conocer la concentración de ácidos grasos saturados, insaturados, cadena corta, cadena media, cadena larga y relación entre insaturados y saturados en la leche de cabras Alpino Francés suplementadas con enzimas fibrolíticas exógenas.

HIPÓTESIS

Las enzimas fibrolíticas exógenas incrementa la producción y modifica el perfil de ácidos grasos insaturados de la leche de cabra Alpino Francés, al ser incluidas en su dieta.

REVISIÓN DE LITERATURA

Características generales de la cabra Alpino Francés

Origen

La cabra Alpino Francés es originaria de los Alpes suizo, llegó a los Estados Unidos Americanos (EUA), en 1920, su color varía de blanco al negro, cambiando en tonalidades y sombras en el mismo animal (Belanger, 1984).

Alimentación

La cabra se considera como animal selectivo, con capacidad de ramonear arbustos y árboles, lo que le permite obtener una dieta balanceada en sus nutrimentos, al ingerir por lo general materia vegetal tierna, lo que significa que tienen mayor preferencia por el contenido celular y una capacidad importante, pero limitada para digerir la celulosa; aspectos que resultan ciertos cuando las cabras se mantienen bajo condiciones de pastoreo (Hofmann, 1993). Sin embargo, cuando por condiciones productivas, estos animales son manejados de manera intensiva (estabuladas), la base de su alimentación deberían ser los forrajes de buena calidad como la alfalfa y ensilado de maíz, complementado con el uso de granos, pastas de oleinosas, vitaminas y minerales y de esta manera cumplir con sus requerimientos de proteína y energía (NRC, 2007)

Sanidad

Existe un gran interés en los padecimientos de las cabras a pesar de que frecuentemente se dice que éstas son uno de los animales domésticos más sanos. La mayoría de la gente que pone

atención a la alimentación correcta y a otros detalles de manejo, tiene muy pocos problemas referentes a la salud de sus cabras. Mientras se tenga más cabras y más tiempo se críen, será más factible que observe problemas en su hato. Las enfermedades solo son una ausencia de salud: la salud es un estado natural, y puede conservarse mediante nutrición adecuada y medio ambiente racional. Si los animales se enferman, se debe a condiciones erróneas de alimentación, medio ambiente, o en algunos casos de crianza. El tratar los síntomas será útil en ocasiones; pero a menos que se corrijan las causas subyacentes, cualquier dinero gastado en medicamento es desperdiciado. (Belanger, 1984).

Manejo

Para lograr que la cría de cabras sea rentable, se requiere de un buen estudio del área donde se va establecer el negocio, con objeto de verificar si el medio y los recursos resultan apropiados, para que se alimenten bien los animales y se manejen en forma organizada de acuerdo con su función zootécnica, en el sistema que proceda; lo cual permite conservar la salud y principales cualidades de la especie y rendir el mejor provecho en su vida productiva. Al buscar tecnificar el manejo de la cabra, hay que tomar en cuenta sus hábitos y temperamento, porque la cabra siempre busca la libertad. En el manejo de la cabra lechera se requieren mayores conocimientos y más vigilancia que para otras especies. (Agraz, 1989).

Características Productivas

Producción de leche

Debe entenderse primero que todos los mamíferos tienen curvas de lactación, las que en su estado natural satisfacen las necesidades de sus crías. El hombre ha alterado estas algunas veces a través de la selección para satisfacer sus propias necesidades; pero las curvas aún

permanecen. La producción de leche se incrementa con fuerza y rapidez después del parto en respuesta al rápido crecimiento del recién nacido. En la cabra, la cima se alcanza alrededor de dos meses después del parto. De la cima, la curva de lactación gradualmente va descendiendo. Esto trae a colación cual es probablemente el problema más común con la terminología con referencia a la producción. Nosotros frecuentemente escuchamos la expresión “ordeña de galón”. El termino tiene poco valor practico o carece de él, para nosotros debe conocerse en qué punto de la curva de lactación este galón día se obtiene y aún más importante que muestra el resto de la curva. La cabra que puede alcanzar la producción de un galón de leche al día dos meses después del alumbramiento, después cae en forma drástica y se seca en un periodo corto más tarde, probablemente producirá mucho menos que un animal cuya máxima lactación es menos espectacular, pero que mantiene un alto nivel a lo largo de la lactación. Especialmente en la granja de autoconsumo, donde el abasto continuo de leche es requerido, continuo y lento es más deseable que la ostentosa y superficial de un día. Es mucho más práctico hablar de libras de leche por lactación. El periodo tradicional de lactación es de 305 días. Si una cabra es cruzada una vez al año y secados dos meses antes de la parición para descansar y reponerse, este periodo es lógico. A pesar de ello, en algunos casos puede ser arbitrario una cabra puede producir leche durante mas o menos 305 días una buena práctica es el comparar a los animales.

Calidad de la leche

La leche de cabra es más fácil digerir que la leche de vaca debido a que su grasa es más fina y más fácil de asimilar; es particularmente rica en anticuerpos y cuando está recién extraída tiene una cuenta bacteriana más baja que la leche de vaca, cuando se bate, la crema de la leche

de cabra tiene mayor cuerpo que la de vaca: la gravedad específica de la leche de vaca es de 0.96 y de la leche de cabra 0.83.

Propiedades nutricionales de la leche de cabra

A nivel mundial, la leche de cabra (*Capra hircus*) es consumida principalmente como un producto fluido sin que medie una transformación de la misma en otros derivados lácteos, razón por la cual sus características principales son muy importantes a nivel nutricional. Se ha estimado que existen más personas en el planeta que consumen leche de cabra, que las que consumen cualquier otro tipo de leche (Capra 2004). La FAO proyectaba que ya para el año 2000 la demanda mundial de leche de cabra sería de 242 millones de toneladas, contra una oferta estimada de 177,6 millones de toneladas, en su mayoría producida en los países tropicales en desarrollo, donde se ubica el 95% de la población caprina (Knights y Garcia 1997). Económicamente, la leche de cabra es importante en muchas regiones, representando el 2% de toda la leche comercializada a nivel mundial. Para el año 1994, India era el mayor productor mundial con 2,2 millones de toneladas anuales, lo que representó el 21,6% del total global (Haenlein 2002). Le siguen Bangladesh (9,7%), Irán (8,7%), Pakistán (5,8%), Sudán (5,5%) y Grecia (4,5%). En el continente africano, la contribución a la dieta que representa la leche de cabra es variable, llegando a constituir desde menos de 5 kg anuales *per cápita* hasta más de 450 kg. De este último dato se desprende que para muchas personas es parte fundamental de su dieta. Dada su factibilidad como animal lechero, se considera que el manejo adecuado y constante de lecherías basadas en la cabra, representa una de las mejores estrategias para aliviar las hambrunas y combatir la desnutrición en países en vías de desarrollo. Más allá de sus posibilidades económicas y de su uso para llenar las necesidades nutricionales diarias, la leche de cabra posee cualidades que la hacen apropiada para niños,

adultos y madres que amamantan, entre las que se puede citar sus propiedades nutraceuticas y antialergenicimas (Gilbere y Hom 2002). En niños que presentan malnutrici3n por mala alimentaci3n o lactancia deficiente, la leche de cabra ha demostrado ser un sustituto superior a la leche de vaca (*Bos taurus*) (Gilbere y Hom 2002; Capra 2004). No obstante, los pediatras no la recomiendan como sustituto total de la leche materna en infantes menores de un ańo dado su alto nivel proteico y mineral, y por su bajo contenido de carbohidratos, 3cido f3lico y vitaminas C, D, E, B (Darnton *et al.* 1987). Estudios en niños han demostrado que los resultados obtenidos en cuanto a ganancias de peso, aumento en la estatura, mineralizaci3n esquel3tica, densidad de hueso y contenido de vitaminas en sangre (vitamina A, niacina, tiamina, riboflavina y niacina) son superiores cuando se da una alimentaci3n con leche de cabra (American Dairy Goat Association 2004). Estas y muchas otras razones hacen de especial inter3s el estudio y compresi3n de los aspectos y alcances nutricionales de la leche de cabra, a lo que se avoca el presente trabajo.

Perfil de 3cidos Grasos en leche de cabra

Los 3cidos grasos (AG) son mol3culas de naturaleza lip3dica que presentan un grupo carboxilo terminal unido a una cadena hidrocarbonada. Pueden clasificarse de distintas maneras en funci3n del n3mero de 3tomos de carbono de su cadena o en funci3n del n3mero de dobles enlaces que presenten. De entre todos ellos, es bien conocido que los AG poliinsaturados, (AGPI) es decir, aquellos que contienen dos o m3s dobles enlaces en su cadena, juegan un papel importante dentro de nuestro organismo. Son dos las principales familias de AGPI: los omega 3 (n-3) y los omega 6 (n-6). Aunque se trata de familias estructural y funcionalmente diferentes, ambas tienen v3as metab3licas muy interrelacionadas. El organismo humano sintetiza numerosos AG denominados no esenciales, pero hay otros que deben ser

incorporados por medio de la dieta, ya que el cuerpo no es capaz de sintetizarlos, por lo que se conocen como esenciales. George y Mildred Burr, en 1929, observaron que la alimentación de ratas con una dieta carente en grasas producía un crecimiento muy pobre de los animales, dermatitis grave, pérdida de pelaje, emaciación y a veces la muerte. No fue hasta 1963 cuando Hansen y sus colaboradores demostraron en humanos la clara necesidad del aporte de ciertos AG en la dieta. Los AG n-6 y n-3 son muy importantes para mantener la estructura de las membranas celulares, facilitar la absorción de vitaminas liposolubles y regular el metabolismo del colesterol, lo cual hace que tengan una función primordial en el desarrollo del sistema nervioso y visual. Además en los últimos años ha aumentado el interés científico en relación a su capacidad de producir eicosanoides (prostaglandinas, prostaciclina, leucotrienos y tromboxanos) y la regulación de múltiples procesos celulares, entre ellos el control de la homeostasis vascular, coagulación sanguínea y fenómenos inflamatorios. El interés por el estudio de los AG n-3 surgió a partir de los años 70 tras la observación de Bang y Dyberg quienes detectaron en la población esquimal de Groenlandia una baja mortalidad por enfermedad cardiovascular a pesar de una dieta rica en grasas. Los autores propusieron la dieta rica en n-3 proveniente de una fuente marina (pescados, focas y ballenas) como causa de este hallazgo. Desde entonces, numerosos estudios experimentales, epidemiológicos y de intervención han demostrado que la ingesta de una dieta rica en AG n-3 reduce la mortalidad coronaria y la muerte súbita cardíaca y que en las zonas geográficas donde estos AG predominan en la dieta la incidencia de enfermedad cardiovascular disminuye. Se ha demostrado que los AG n-3 reducen las concentraciones plasmáticas de triglicéridos, tienen propiedades antiarrítmicas, antiaterogénicas, antitrombóticas y antiinflamatorias. Ciertas enfermedades crónicas de base inflamatoria podrían entonces ser susceptibles de ser tratadas con AG n-3. Destacaríamos patologías como enfermedad de Crohn, colitis ulcerosa,

pancreatitis aguda, artritis reumatoide traumas de origen múltiple, asma, fibrosis quística, enfermedad de Alzheimer y neuropatía por inmunoglobulina A, entre otras. .Por otra parte, la importancia del aumento del cociente n-6/n-3 ha sido estudiado repetidamente en los últimos años. En la sociedad industrializada se observa un incremento del consumo de hidratos de carbono refinados, grasas saturadas, AG n-6 y grasas trans, mientras que ha disminuido la de AG n-3, hidratos de carbono de absorción lenta y fibra. Esto ha hecho que mientras que la ratio n-6/n-3 en los países industrializados es de 15-20/1, la de los animales salvajes y la que suponemos de los hombres prehistóricos es de 1/1. Este cambio en el esquema de AG consumidos ha dado lugar al aumento de la prevalencia de enfermedades crónicas como aterosclerosis, hipertensión arterial esencial, obesidad, diabetes mellitus, artritis y algunas enfermedades autoinmunes, así como diferentes tipos de cánceres, como el de mama, colon y próstata. La posible utilidad clínica de este tipo de AG en gran cantidad de patologías ha hecho que aumentara el interés por la composición de estos nutrientes en las fórmulas de nutrición enteral específicas. El siguiente paso será el valorar el cociente n-6/n-3 más que la composición total de AG n-3 a la luz de los últimos estudios. Y por último, en un tercer paso se ha revisado el aporte de EPA y DHA en estos productos de nutrición enteral. Todas estas consideraciones nos llevan a estudiar el metabolismo de estos AG n-3, para conocer sus metabolitos intermedios y los mediadores inmunitarios de los que son sustratos, además de las interacciones existentes de los enzimas que participan en el paso de un metabolito a otro.

Enzimas

Las enzimas son catalizadores proteínicos, formados por cadenas de aminoácidos, que aceleran la velocidad de una reacción. La producción de enzimas por microorganismos, emplea el sustrato como alimento y así obtienen energía la cual emplean para sus

funcionamientos metabólicos (Madigan *et al.*, 1998). Dependiendo de la forma tridimensional y la posición de los aminoácidos dentro de la molécula, es lo que confiere las propiedades catalíticas de las enzimas (Sheppy, 2001). Las enzimas tienen muchas propiedades que difieren de las mostradas por los catalizadores en general, como son: alto poder catalítico, especificidad ya que solo catalizan la reacción en la que participa sustrato o un grupo de sustratos con ciertas características químicas y geométricas comunes y, acción bajo condiciones suaves en un intervalo moderado de temperatura, pH y presión (Scragg, 1998; Laguna y Piña, 2002).

Las enzimas son consideradas como proteínas y se clasifican de acuerdo a su actividad en seis grupos (Cuadro 1). Poseen un sitio activo que permite unirse al sustrato, originando rupturas en enlaces determinados (Tailor y Headon, 1992; Frumholtz y Beauchemin, 1999).

Las enzimas en ocasiones requieren cofactores que pueden ser orgánicos o inorgánicos, en donde los orgánicos son coenzimas que se encuentran constituidas por vitaminas hidrosolubles (B1, B2 y B6); en caso de las inorgánicas, se conocen como metaloenzimas las que requieren iones metálicos como el $Mn + 2$, $Fe + 2$, $Zn + 2$, $Cu + 2$ y $Mg + 2$ (Bohinsky, 1991).

Cuadro 1. Clasificación de las enzimas de acuerdo a su acción

Clasificación	Acción
Oxirreductasas	Catalizan la transferencia de hidrógeno, oxígeno o electrones de una molécula a otras
Transferasas	Catalizan la transferencia de grupos como acetilo, amino y fosfato
Hidrolasas	Realizan ruptura hidrolítica de enlaces (participando el agua)
Liasas	Ruptura de enlaces mediante mecanismos diferentes a la hidrólisis u Oxidación
Isomerasas	Efectúan reacciones de isomerización
Sintetasas	Formulación de enlaces causado por la condensación de dos sustancias diferentes con aporte de energía

Adaptado de Lehninger (1994); Laguna y Piña (2002)

Condiciones que afectan la actividad enzimática

Entre las condiciones que afectan la actividad de las enzimas se encuentran la concentración de la enzima, concentración del sustrato, pH y temperatura. En términos generales, existe una relación óptima entre la concentración de la enzima y del sustrato para obtener su actividad máxima; además, cada enzima funciona de manera óptima a pH y temperatura particulares. Variaciones extremas en el pH pueden destruir la mayor parte de las enzimas y temperaturas extremadamente bajas detienen la actividad enzimática pero no las destruyen. Sin embargo, muchas enzimas se pueden conservar manteniéndolas a 0 °C o temperaturas más bajas (Pelczar *et al.*, 1982; Huber, 1985).

El desarrollo de los microorganismos está influido por una gran variedad de condiciones físicas y químicas, ya que las enzimas son las responsables de catalizar las reacciones asociadas con el proceso en la vida. Como existe pH y temperaturas óptimas para el desarrollo, también lo hay para la actividad de cada enzima y la cantidad de enzimas que producen las células. Sin embargo, esto no significa que los valores para cada enzima deban ser iguales. La razón para que existan discrepancias, es que en el caso del desarrollo, la actividad o respuesta se mide en términos de la actividad total necesaria para el desarrollo cuando todas las enzimas y sistemas enzimáticos funcionan de manera armónica en las células (Pelczar *et al.*, 1982; Huber, 1985). Las condiciones óptimas se deben estimar en términos de qué es lo mejor para todo el sistema, para determinar la actividad de una enzima aislada y purificada, la situación es enteramente diferente. La enzima ya no se encuentra en su ambiente natural y por lo mismo ya no se encuentra influida por éste, o integrada a la multitud de reacciones que ocurren ahí. Así pues, las condiciones óptimas para la actividad de una enzima no son necesariamente las mismas para todas las enzimas o para el funcionamiento de una célula completa (Pelczar *et al.*, 1982; Huber, 1985).

Cinética enzimática

Estudia la velocidad de las reacciones químicas que son catalizadas por las enzimas. Estudios de Mc Allister *et al.* (2001) proporcionan información directa sobre su mecanismo catalítico y su papel dentro del metabolismo. La actividad enzimática se analiza midiendo el tiempo o la desaparición de un sustrato definido o la generación de un producto de la reacción bioquímica catalizada por la enzima. La actividad de las enzimas para uso en la industria de la alimentación, se mide con mayor frecuencia con el enfoque de este último, se expresa como la cantidad de producto obtenido por unidad de tiempo. Estas medidas deben llevarse a cabo en condiciones muy determinadas con respecto a la temperatura, pH, energía iónica, la concentración de sustrato y tipo de sustrato, como todos estos factores pueden afectar la actividad de una enzima (Headon, 1993; Mc Allister *et al.*, 2001).

Efecto del pH

El pH juega un papel primordial en las reacciones enzimáticas, ya que afecta la actividad de la mayoría de las enzimas, tanto en la transformación del sustrato a producto como en la fijación del sustrato al sitio activo de la enzima. El efecto del pH en la actividad enzimática por lo general, se observa en un gráfico de campana, en el cual se presenta un pH óptimo, es decir, que alcanza su máxima actividad. Por arriba o por debajo de este valor la actividad disminuye o aumenta dependiendo de cada enzima. La presencia de los puentes de hidrogeno, entre los distintos grupos de la proteína y el aumento o la disminución del pH, afecta el estado de protonación de estos y su capacidad para la formación de puentes de hidrógeno (Laguna y Piña, 2002; Colombatto *et al.*, 2007).

Efecto de la temperatura

Cuando se estudia la velocidad de reacción que es catalizada por una enzima a diferentes temperaturas, generalmente se observa un comportamiento en donde al inicio se presenta una fase ascendente en la actividad, seguida de un punto máximo y por último de una fase en que la actividad se pierde, debido a que la energía térmica de la cadena polipeptídica se incrementa y comienza a predominar sobre las fuerzas que mantienen la estructura nativa de la enzima. En estas condiciones, la proteína se desnaturaliza y la actividad se pierde, dejando de funcionar como un catalizador (Bhat y Hazlewood, 2001).

Enzimas exógenas

El uso de las enzimas exógenas en la alimentación animal data desde 1960, en dietas para no rumiantes (Beauchemin *et al.*, 1997). Diversas enzimas se han usado como aditivos para la alimentación animal y se clasifican de acuerdo al sustrato de mayor afinidad (Cuadro 2) (Frumholtz, 2001). Las enzimas son elaboradas a partir de diferentes microorganismos, mediante procesos biotecnológicos de fermentación controlada (Kung, 1999). Algunas enzimas se utilizan para remover factores anti - nutricionales de los alimentos, incrementado la digestibilidad y coadyuvando en la actividad enzimática endógena (Bedford, 1993; Smiricky *et al.*, 2001).

Cuadro 2. Enzimas aisladas y utilizadas en la nutrición animal

Enzima	Origen	Función
Proteasas	<i>Aspergillus sp</i> <i>Bacillus sp</i>	Debilitan potencialmente la matriz proteica del almidón, mejorando la digestión
Fibrolíticas	<i>Aspergillus sp</i> <i>Trichoderma</i>	Mejoran la utilización de los alimentos fibrosos
Amilasas	<i>Aspergillus sp</i> <i>Bacillus sp</i>	Incrementa el aprovechamiento de alimentos con alto contenido de almidón

Adaptado de (Kung, 1999).

Hemicelulasas

Son enzimas que participan en la hidrólisis de materiales hemicelulolíticos en oligosacáridos, disacáridos y monosacáridos, están conformadas por L-arabinasas, D-manasas y D-xilanasas; esta última es la que tiene mayor importancia; además, son enzimas del tipo glicosil hidrolasas, ya que su acción sobre el sustrato se da por medio de una reacción de hidrólisis (Bhat y Hazlewood, 2001). La mayoría de los estudios de Hemicelulasas bacterianas son realizados en *Bacillus*, *Streptomyces*, *Cellulomonas*, *Thermomonospora*, y *Chainia sp.* (Biely *et al.*, 1997).

Xilanasas

Son enzimas (1,4- β -D-xilan xilanhidrolasas) que, hidrolizan las uniones internas β -1,4 de la cadena principal de xilana, liberando principalmente xilobiosa, xilotriosa y oligómeros (Reily, 1981; Coughlan y Hazlewood, 1993). Debido a la naturaleza química tan heterogénea y compleja de la xilana, su ruptura completa requiere de la acción sinérgica de diversas enzimas hidrolíticas con diferente especificidad y modos de acción (Coughlan y Hazlewood, 1993; Bhat y Hazlewood, 2001). El sistema de enzimas xilanolíticas que llevan a cabo la hidrólisis de la xilana está generalmente compuesto por las enzimas hidrolíticas: β -1,4-endoxilanasas, α -L-arabinofuranosidasas, acetil xilan esterasa, β -xilosidasas, y α -glucuronidasas. Las β -1,4 que actúan sobre la cadena principal del polímero, mientras que el resto de las enzimas remueven las cadenas laterales (Reily, 1981; Bhat y Hazlewood, 2001).

Importancia de las enzimas en la alimentación de rumiantes

El interés en el uso potencial de las enzimas en las dietas de rumiantes surge como consecuencia de un elevado costo de la alimentación del ganado, de la poca disponibilidad de mezclas de enzimas nuevas y del potencial económico que representan los suplementos

efectivos de enzimas (Pelczar et al., 1982; Frumholtz y Beauchemin, 1999). Actualmente las enzimas se utilizan con el objetivo de mejorar el valor nutritivo de los alimentos para rumiantes y no rumiantes y también como aditivos en el ensilaje (Beauchemin y Rode, 1996). Sin embargo, no se utilizan rutinariamente en las dietas de rumiantes. Se han realizado numerosos estudios con bovinos y ovinos, los cuales muestran que la adición de enzimas mejora la digestibilidad del alimento y el rendimiento animal es notorio, aunque los resultados varían considerablemente (Beauchemin y Rode, 1996). Actualmente las evidencias indican que el uso de las enzimas en la dieta de rumiantes es efectivo y mejora la eficiencia de utilización del alimento (Frumholtz y Beauchemin, 1999).

Fuentes y uso de las enzimas exógenas en la alimentación de rumiantes

En la década de los 60 se realizaron las primeras inclusiones de enzimas exógenas amilolíticas y celulolíticas en la alimentación de rumiantes (Burroughs *et al.*, 1960; Ralston *et al.*, 1962; Rovics y Ely, 1962; Rust *et al.*, 1965), obteniendo respuestas variables y no llevaron a cabo investigaciones para conocer el modo de acción de estos productos, además, de que la producción de este tipo de enzimas era demasiado costosa y difícil de obtener. Actualmente con los avances de la biotecnología estos obstáculos ya se han salvado y en los últimos años se ha retomado esta línea de investigación (Chen *et al.*, 1995; Beauchemin *et al.*, 1997; Mc Allister *et al.*, 1999). La gran gama de productos enzimáticos comerciales para el uso en la alimentación de rumiantes, son obtenidas en general de cuatro especies de bacterias (*Bacillus subtilis*, *Streptococcus faecium*, *Lactobacillus acidofulus*, *L. plantarum*) y tres especies de hongos (*Aspergillus oryzae*, *Trichoderma reesei*, *T. longibrachiatum*) (Muirhead, 1996).

Las enzimas exógenas tienen la función de catalizar al sustrato (alimento), el cual, es hidrolizado en componentes químicos más simples (azúcares, aminoácidos, ácidos grasos) y

estos son usados por las células y los microorganismos ruminales, los cuales, a su vez son aprovechados por el rumiante. Los extractos enzimáticos fibrolíticos son empleados como aditivos para la alimentación de rumiantes, generalmente son caracterizados en celulasas y xilanasas, pero ninguno de todos los productos comerciales se encuentra compuesto por enzimas purificadas o aisladas, es decir, son mezclas de ambas en distintas concentraciones (Beauchemin y Rode, 1996) y además presentan actividades secundarias como amilasas, proteasas y pectinasas. El uso de enzimas fibrolíticas exógenas ha dado variaciones en las respuestas ruminales. Mc Allister *et al.* (2001), observaron un incremento en la actividad celulolíticas y hemicelulolíticas, por la asociación de las enzimas exógenas con las endógenas (Mc Allister, 1994a; Yang *et al.*, 1999).

Modo de acción de las enzimas exógenas en rumiantes

Las enzimas fibrolíticas podrían tener efecto, desde antes que el alimento sea consumido por el animal, además puede funcionar como un estímulo de la digestión en el rumen y en el tracto post - ruminal (Mc Allister *et al.*, 2001). Presenta un efecto pre - hidrolítico del forraje, por medio de la liberación de hidratos de carbono soluble, lo cual, estimula la actividad digestiva por un efecto cinérgico con los microorganismos. Algunas enzimas pueden subsistir a la degradación ruminal y pasar al tracto post - ruminal incrementando la digestión de la fibra o la absorción intestinal de los nutrientes, mediante la disminución de viscosidad e incluso pueden mejorar la actividad enzimática en heces, con esto optimizan la descomposición aeróbica de las heces (Mc Allister *et al.*, 2001).

Efectos ruminales de las enzimas exógenas

Hasta hace poco se suponía que, la introducción de las enzimas exógenas en el rumen, se degradaban rápidamente por el conjunto de proteasas producidas por los microorganismos ruminales (Kung, 1996). De hecho, celulasas provenientes de hongos se incubaron con líquido ruminal y fueron rápidamente degradadas después de 6 horas de incubación, menos del 25 % mantuvieron su actividad original (Kopency *et al.*, 1987). Sin embargo, experimentos mostraron que la actividad xilanasa se mantuvo constante después de 6 horas de incubación con líquido ruminal (Hristov *et al.*, 1998 b). Además, las enzimas exógenas aumentaron la actividad xilanasa y celulasa en el rumen (Hristov *et al.*, 1998 a), y hay pruebas de que la disminución de actividad de la enzima exógena en el líquido ruminal se asocia tanto con la inactivación de las enzimas y con su salida de la fase líquida del contenido ruminal (Hristov *et al.*, 1996). El hecho de que las enzimas exógenas permanecen activas en el rumen se plantea la posibilidad de que puedan mejorar la digestión a través de la hidrólisis directa del alimento ingerido. Varios investigadores han demostrado que las enzimas exógenas pueden mejorar la degradación de la fibra por los microorganismos ruminales *in vitro* (Feng *et al.*, 1996) e *in situ* (Forwood *et al.*, 1990; Varel *et al.*, 1993; Lewis *et al.*, 1996). Este efecto ha sido confirmado en algunos (Beauchemin *et al.*, 1999; Yang *et al.*, 1999) pero no en todos (Firkins *et al.*, 1990; Varel y Kreikemeier, 1994) los estudios realizados utilizando animales con cánulas ruminales y duodenales. Aunque la adición de enzimas exógenas puede aumentar la actividad de xilanasas y celulasas en el líquido ruminal, la actividad de la enzima en el líquido por lo general representa menos del 30 % del total de actividad de la enzima en el rumen, y el resto se asocia con las partículas de alimento (Minato *et al.*, 1966; Brock *et al.*, 1982). Teniendo en cuenta que las enzimas exógenas representan sólo una pequeña fracción de la actividad enzimática ruminal, y que la microbiota ruminal son intrínsecamente capaces de digerir

rápida la fibra (Mc Allister *et al.*, 1994 a), es difícil imaginar cómo las enzimas exógenas podrían mejorar la digestión ruminal de la fibra a través de hidrólisis directa. La mejora de la digestión de la fibra en el rumen, parece más factible si estos productos están trabajando en sinergia con los microbios del rumen. Lógicamente, este concepto implica que los preparados de enzimas exógenas contienen actividades enzimáticas que normalmente se limitan a la digestión de las paredes celulares de las plantas por los microorganismos ruminales.

Aplicación de enzimas fibrolíticas en rumiantes

Las investigaciones se han enfocado hacia el modo de acción de los aditivos de enzimas fibrolíticas, en las dietas de los rumiantes, con el objetivo de que las preparaciones enzimáticas sean consistentes y den respuestas óptimas. El uso de enzimas exógenas es benéfico cuando la preparación y la composición del alimento se complementan. Diversos estudios realizados en bovinos y ovinos, han demostrado que la adición de enzimas en los alimentos mejora su digestibilidad de éstos cuando son fibrosos y, en consecuencia aumenta la producción animal (Bauchemin y Rode, 1996). Pero debido al costo elevado de las enzimas, comparado con otros aditivos y la falta de respuesta, originó que el uso de las enzimas en los rumiantes se abandonara (Frumholtz y Bauchemin, 1999). Actualmente se utiliza un producto enzimático fibrolítico exógeno (Fibrozyme, Alltech, INC, Nicholasville, KY, USA), el cual es una combinación de extractos de la fermentación de *Aspergillus niger* y *Trichoderma viride* y fermentos solubles, protegidos por glucosilación, con una actividad xilanásica de 100 U g⁻¹ (una unidad xilanásica es la cantidad de enzima necesaria para liberar un micromol de xilosa). Como esta enzima está protegida puede permanecer activa en el rumen por 12 h, aproximadamente (Harris, 1988; Lyons, 1998). Estudios *in vitro* de esta enzima han

demostrado efectos benéficos en la digestión de forrajes. Aranda (2000), al estudiar esta enzima (Fibrozyme) con caña integral y sus componentes fibrosos FDN y FDA, encontró incrementos en la digestibilidad *in vitro*, con mayor crecimiento de microorganismos ruminales. Esto explica que las enzimas modifican la solubilidad y la digestibilidad de la fibra, al permitir una mayor actividad de los microorganismos ruminales. Los resultados de Beauchemin *et al.* (1995), con enzimas celulolíticas exógenas, muestran que es posible mejorar en 30 % la respuesta productiva de novillos, a pesar de que las enzimas son degradadas en el rumen. Feng *et al.* (1992 a b) y Pinos (1999), también observaron cambios benéficos en el consumo de bovinos, al adicionar enzimas fibrolíticas. Titi *et al.* (1998), asperjaron cuatro enzimas fibrolíticas (10 %), en heno de alfalfa y cascarilla de semilla de algodón; la enzima mejoró la desaparición de la materia orgánica *in vitro* a las 12, 24 y 36 h. En otro estudio *in vitro* se obtuvieron incrementos (4 a 5 %), en la digestibilidad de la FDN en heno de alfalfa y pasto bromo (Feng *et al.*, 1996; Beauchemin *et al.*, 1998). Los resultados *in vivo* de varios estudios muestran un aumento (2.3 %) en la digestión de la FDN (Beauchemin *et al.*, 1995; Feng *et al.*, 1996; Lewis *et al.*, 1996; Beauchemin *et al.*, 1998; Krause *et al.*, 1998; Yang *et al.*, 1998). Pinos (1999) encontró una interacción entre la calidad del forraje y la respuesta a la enzima, porque el efecto fue mayor en alfalfa comparado con un ballico. Dawson y Tricarico (1999), observaron incrementos en la producción de leche (0.28 a 2.8 kg d⁻¹) al proporcionar 15 g de Fibrozyme, lo cual asociaron a un mayor consumo de materia seca y de nutrientes digestibles. Sin embargo, Zinn y Salinas (1999), no encontraron efectos en la ganancia de peso de novillos en crecimiento, alimentados con 78 % de concentrado. Algunos estudios no han tenido éxito, quizá porque han usado enzimas celulolíticas en dietas a base de granos, cuando las condiciones de acidez limitan la actividad de las enzimas celulolíticas (ZoBell *et al.*, 1998), o la magnitud de los cambios es poco relevante por la cantidad de fibra

de la ración (Maki *et al.*, 1998). Otra posible causa a la falta de respuesta de las enzimas, es que el sustrato usado no corresponda al de la especificidad de la enzima, a la falta de contacto con el sustrato o a la falta de protección de las enzimas (Harris, 1998). Otro problema puede deberse a la falta de contacto de la enzima con el sustrato. Lewis *et al.* (1996), proporcionaron una mezcla de enzimas, en forma directa a bovinos o asperjada al forraje, y encontraron que se incrementó la digestibilidad cuando el producto fue asperjado, pero la adición directa no tuvo efectos.

Efecto de hidrólisis en el rumen

La adición de enzimas exógenas (0.01 a 0.1 %) en la dieta de rumiantes, contribuye en el caso de ensilajes a un aumento en la actividad fibrolítica de 10 a 100 veces por gramo de alimento (Frumholtz y Beauchemin, 1999). Sin embargo, se requiere numerosas enzimas para la hidrólisis de los polisacáridos estructurales de las paredes celulares de las plantas, pero el proceso de degradación es un sistema completo que aún no se conoce a detalle (White *et al.*, 1993). Con base en las estimaciones de la actividad fibrolítica, presente normalmente en la fracción fluida del rumen, se estima que la adición de enzimas puede presentar hasta un 15 % de la actividad fibrolítica total. Sin embargo, la actividad de las enzimas se mide en condiciones de pH óptimo, las cuales generalmente difieren de las condiciones del rumen. Esto sugiere que la contribución de las enzimas exógenas, a la actividad fibrolítica, es considerablemente menor que la calculada. Además, la actividad fibrolítica enzimática detectada en el material particulado es 2 a 10 veces mayor que en el fluido del rumen (Williams y Strachan, 1984). Entonces, es difícil evaluar la contribución de enzimas exógenas en actividad fibrolítica, aunque es probable que sea baja comparada con la del rumen (Frumholtz y Beauchemin, 1999).

Actividad microbiana en rumen

Además de la colonización bacteriana, las enzimas exógenas pueden estimular la actividad enzimática endógena del rumen. Estudios preliminares han demostrado que el suministro directo de microorganismos de origen fúngico en el alimento (*Aspergillus oryzae*), aumenta el número de bacterias en el rumen. El mecanismo de dicha estimulación no está totalmente claro. Tal vez el suministro directo de microorganismos aporta factores de crecimiento, necesarios para las bacterias del rumen (Martín y Nisbet, 1992), modera el bajo pH del rumen o suministra enzimas fibrólíticas exógenas (Newbold, 1995). Se ha sugerido que el incremento de la población de bacterias celulolíticas, es el elemento responsable de la mejora de la digestión del forraje, cuando se suministran microorganismos directamente en el rumen.

MATERIALES Y MÉTODOS

Norma oficial Mexicana

Todos los procedimientos involucrados en el manejo de los animales durante el periodo experimental se llevaron a cabo de acuerdo con las normas oficiales mexicanas del cuidado de los animales (NOM-033-SAG/ZOO-2014).

Ubicación de estudio

El experimento fue realizado en el área metabólica de la granja experimental, y el laboratorio de nutrición animal del Centro Universitario UAEM Temascaltepec (Figura 1), Universidad Autónoma del Estado de México, México, localizada a 19°02'04"N, 100°02'14"W, 1720 msnm. El clima es moderadamente húmedo con lluvias en verano, una temperatura promedio de 15-18 °C y presipitación pluvial 950-1000 mm (García, 1987).

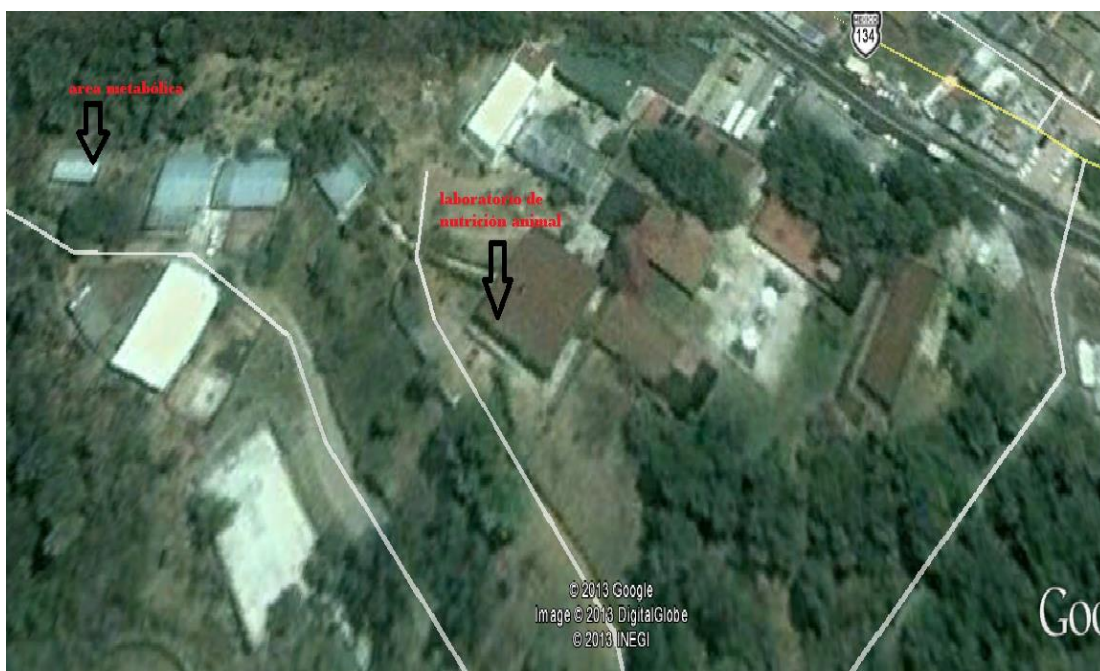


Figura 1. Localización geográfica del área metabólica y laboratorio de nutrición animal, Centro Universitario UAEM Temascaltepec.

Animales, alojamiento, alimentación

Después del parto, veinticuatro cabras lecheras Alpino Francés de primer parto (39 ± 2.5 kg de peso vivo y 9 meses) fueron alojadas en corraletas individuales, para que durante 10 días se adaptaran al manejo (Figura 2) y la ingestión de una dieta basal (Cuadro 3). En el día uno de este periodo las cabras fueron inyectadas con 3 mL animal⁻¹ de vitaminas liposolubles (A, D, E; Vigantol, Bayer, Ciudad de México, México) y con 1.0 mL de Ivermectina animal⁻¹ (Laboratorio Sanfer, Ciudad de México, México) eliminar los parásitos internos y externos.

Cuadro 3. Ingredientes y composición química de la dieta basal, se ofreció a las cabras lecheras Francés Alpinos durante el primer tercio de la lactancia.

Ingrediente	g/kg
Granos Sorgo	171
Grano de Maíz	171
Salvado de Trigo	90
Harina de Soya	90
Urea	12
Melaza	48
Minerales y Vitaminas	18
Rastrojo de Maíz	80
Heno de Alfalfa	320

* Premezcla de minerales y vitaminas conteniendo: vitamina A (12 000 000 IU), vitamina D3 (2 500 000 UI), vitamina E (15 000 UI), vitamina K (2,0 g), vitamina B1 (2,25 mg), vitamina B2 (7.5), vitamina B6 (3,5 g), vitamina B12 (20 mg), ácido pantoténico (12,5 g), ácido fólico (1,5 g), biotina (125 mg), niacina (45 g), hierro (50 g), zinc (50 g), manganeso (110 g), cobre (12 g), yodo (0,30 g), selenio (200 mg), cobalto (0,20 g).

Después de éste periodo, los animales estuvieron en experimentación durante 60 días.



Figura 2. Cabras en periodo de adaptación a las jaulas individuales

Durante todo el periodo experimental, se estuvo monitoreando el estado de salud de los animales. Al inicio del experimento experimental, las cabras se pesaron individualmente y fueron asignados aleatoriamente a dos tratamientos (12 cabras por tratamiento) bajo un diseño de bloques completamente al azar (Steel y Torrie, 1987).

El suministro de la dieta basal (DB, figura 3) fue balanceada para cubrir los requerimientos nutricionales de cabras lecheras alpino frances, durante el primer tercio de la lactación (NRC, 2007). A las cabras se les ofreció la DB, en tres frecuencias de alimentación (07: 00, 13:00 y 19:00 h).

Durante todo el período experimental, la cantidad de alimento ofrecido fue registrado, se recogió diariamente el rechazo y se pesó para la determinación de consumo diario de alimento (García-Rebollar, 2017). Además, se tomaron muestras semanalmente, para obtener una muestra compuesta durante todo el periodo experimental. Todas estas submuestras fueron secadas a 60 °C hasta obtener un peso constante y así almacenarlas para su análisis químico proximal.



Figura 3. Preparación manual de la ración totalmente mezclada proporcionada a las cabras durante el periodo experimental

Tratamientos

Los tratamientos fueron: CTRL: dieta basal sin adición de celulasa; Enzima: dieta basal + Celulasas (Dyadic® Plus, Dyadic International, Inc., Jupiter, FL, EE.UU.) a razón de 2 mL kg⁻¹ de materia seca (MS) de alimento consumido (Figura 4). La actividad de la enzima exógena de la enzima celulasa fue de 30 000 a 36 000 unidades de celulasas g⁻¹ y 7500-10 000 unidades de beta-glucanasa g⁻¹.



Figura 4. Suministro oral de la enzima a las cabras, durante el periodo experimental

Analisis de laboratorio

Las muestras compuestas previamente secadas, fueron molidas en un molino Wiley (molino Wiley, Modelo 4, científico Thomas, Swedesboro, NJ, USA.) equipado con una criba de 1 mm de diámetro, para determinarles: Materia seca (Método 930.15), ceniza (Método 942.05), extracto de éter (Método 945.16) y proteína cruda (CP; Método 984.13), según la AOAC (1997). Para la determinación de las paredes celulares, la fibra neutro detergente (FND) y fibra detergente ácido (FDA) se utilizó la metodología propuesta por Van Soest et al. (1991), utilizando una unidad ANKOM200 Fiber Analyzer (ANKOM Technology Corporation, Macedonia, NY, USA.) (Cuadro 4).

Cuadro 4. Composición química de la ración totalmente mezclada, proporcionada a las cabras Alpino Frances durante el periodo experimental

<i>Nutriente</i>	<i>(g kg⁻¹ de MS)</i>
Materia Seca	865
Materia Orgánica	926
Proteína Cruda	146
Extracto Etéreo	97
Fibra Detergente Neutro	356
Fibra Detergente Ácido	307

VARIABLES DE RESPUESTA

Producción de leche

La producción de leche se cuantificó diariamente mediante ordeño manual y se expresó en kg/d (Báscula electrónica OHAUS Mod. 5603), semanalmente se tomaba una muestra de 150 mL, para medir la composición química y perfil de ácidos grasos.

Perfil de ácidos grasos

Para determinar el perfil de ácidos grasos, el día del muestreo se congelaron 150 mL de leche de cada una de las unidades experimentales, mismos que fue conservado a -20°C, para posteriormente ser liofilizadas (Liofilizadora LAB-CONCO, 4 L) y elaborar una muestra compuesta por unidad experimental, para determinar el perfil de ácidos grasos bajo la siguiente esquema. Las muestras compuestas colectadas fueron centrifugadas a 17,800 x g por 30 minutos a una temperatura de 8°C, de la grasa separada por centrifugación se obtuvieron de 300 a 400 gramos para su extracción y metilación para ser analizados bajo la metodología propuesta por Hara y Radin (1978). Los ésteres metílicos de los ácidos grasos fueron re-esterificados con metóxido de sodio de acuerdo a la metodología propuesta por Christie (1982) y modificado por Chouinard et al. (1999). Los ésteres metílicos de los ácidos grasos fueron cuantificados mediante cromatografía de gases utilizando un SP-2560 y una columna capilar (100 m X 0.25 mm i.d. con un espesor de 0.2 μ m; Supelco Inc., Bellefonte, PA). Los análisis involucraron corridas con rampas de temperatura. La temperatura inicial del cromatógrafo fue

de 50°C manteniéndose por 1 minuto, incrementándose a 160°C con intervalos de 5°C/min y se mantuvo así por 42 minutos. La temperatura se incrementó nuevamente a razón de 5°C/min hasta llegar a 190°C y se mantuvo por otros 22 minutos. Las temperaturas del inyector se mantuvieron a 250°C, la velocidad de flujo del gas acarreador (hidrogeno) fue de 1 ml/min. El flujo de hidrogeno al detector fue de 25 ml/min, el flujo de aire fue de 400 ml/min, y el flujo de nitrógeno fue de 45 ml/min. Cada pico fue identificado y cuantificado usando muestras de ésteres metílicos puros (UN Chek Prep, Elysian, MN). La norma de referencia de grasa fue utilizada para determinar la recuperación y los factores de corrección de los ácidos grasos individualmente. La norma de referencia de grasa, también fue utilizada en intervalos regulares durante todo el análisis como una ayuda en el control de calidad.

Diseño experimental

El diseño experimental que se utilizó en el experimento, fue un completamente al azar (dos tratamientos, 12 repeticiones verdaderas).

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

Donde:

Y_{ij} = j-ésima variable respuesta en el i-ésimo tratamiento

μ = Media general

τ_i = Efecto del i-ésimo tratamiento

ϵ_{ij} = Error experimental (0, σ^2)

Análisis estadístico

Los datos de consumo de materia seca, producción de leche y composición se analizaron con el procedimiento PROC MIXED de SAS (SAS Institute 2006) bajo un diseño completamente al azar. Cuando se encontraron diferencia entre tratamientos, las medias se compararon mediante la prueba de Tukey a $P < 0.05$ (Steel y Torrie, 1980).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Producción de leche

Las cabras que recibieron la complementación con las enzimas exógenas aumentó ($P=0.042$) 10 % su producción de leche (Figura 5) respecto al grupo control.

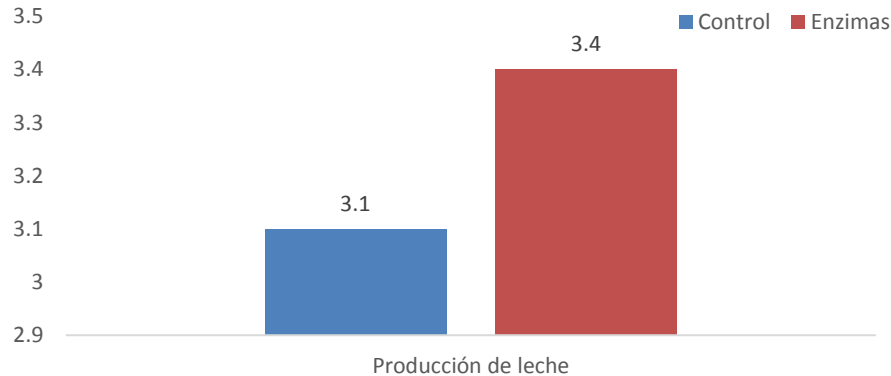


Figura 5. Producción de leche (L d⁻¹) de Cabras Alpino Frances, recibiendo complementación con enzimas fibrolíticas exógenas

Dentro de los factores no genéticos que afectan la cantidad y calidad de la leche producida por las cabras se tiene a la alimentación, misma que, en la medida que contiene mayor cantidad de nutrientes digestibles totales, se aumenta la absorción de nutrientes y consecuentemente se mejora el pool de energía metabolizable para la síntesis de la leche, respuesta que se acentúa en animales especializados como es la cabra Alpino Frances. Ahora bien, el uso de enzimas fibrolíticas exógenas en la producción animal, se implementó inicialmente en la nutrición de cerdos y aves para mejorar la digestión del almidón, en la actualidad también son empleadas para la alimentación de rumiantes, y son productos integrados por celulasas y xilanasas, ninguno de ellos purificados, es decir, son mezclas de ambas en distintas concentraciones (Beauchemin y Rode, 1996) y pueden presentar actividades secundarias como amilasas, proteasas y pectinasas, lo cual es benéfico cuando se tienen planes nutricionales de relación forraje:concentrado (40:60 ó bien 60:40) como se estila en la producción lactea intensiva

(vacas o cabras lecheras). Los resultados sobre su efecto en la productividad animal ha dado variaciones; por ejemplo, Mc Allister *et al.* (2001), observaron un incremento en la actividad celulolíticas y hemicelulolíticas, por la asociación de las enzimas exógenas con las endógenas (Mc Allister, 1994a; Yang *et al.*, 1999) que se traduce en un aumento de la digestión de la fracción potencialmente digestible del alimento, existen otras investigaciones que han demostrado que las enzimas fibrolíticas exógenas podrían tener efecto, desde antes que el alimento sea consumido por el animal, además puede funcionar como un estímulo de la digestión en el rumen y en el tracto post-ruminal (Mc Allister *et al.*, 2001) al presentar un efecto pre-hidrolítico del forraje, por medio de la liberación de hidratos de carbono soluble, lo cual, estimula la actividad digestiva por un efecto sinérgico con los microorganismos. Algunas enzimas pueden subsistir a la degradación ruminal y pasar al tracto post-ruminal incrementando la digestión de la fibra o la absorción intestinal de los nutrientes, mediante la disminución de viscosidad del quimo alimenticio; e incluso pueden mejorar la actividad enzimática en heces, con esto optimizan la descomposición aeróbica de las heces (Mc Allister *et al.*, 2001). Estudios *in vitro* que han evaluado el uso de enzimas fibrolíticas exógenas han demostrado efectos benéficos en la digestión de forrajes. Aranda (2000), al estudiar un producto comercial (Fibrozyme) con caña integral y sus componentes fibrosos FDN y FDA, encontró incrementos en la degradabilidad y un mayor crecimiento de microorganismos ruminales. Esto explica que las enzimas modifican la solubilidad y la digestibilidad de la fibra, al permitir una mayor actividad de los microorganismos ruminales. Los resultados de Beauchemin *et al.* (1995), con enzimas celulolíticas exógenas, muestran que es posible mejorar en 30 % la respuesta productiva de novillos, a pesar de que las enzimas son degradadas en el rumen. Resultados que coinciden con los encontrados en la presente investigación donde la producción de leche en cabras Alpina Frances, se aumentó al incluir la

enzimas fibrolíticas exógenas. Feng *et al.* (1992 a b) y Pinos (1999), también observaron cambios benéficos en el consumo de bovinos, al adicionar enzimas fibrolíticas. Titi *et al.* (1998), asperjaron cuatro enzimas fibrolíticas (10 %), en heno de alfalfa y cascarilla de semilla de algodón; la enzima mejoró la desaparición de la materia orgánica *in vitro* a las 12, 24 y 36 h. En otro estudio *in vitro* se obtuvieron incrementos (4 a 5 %), en la digestibilidad de la FDN en heno de alfalfa y pasto bromo (Feng *et al.*, 1996; Beauchemin *et al.*, 1998). Otros resultado *in vivo* de varios estudios muestran un aumento (2.3 %) en la digestión de la FDN (Beauchemin *et al.*, 1995; Feng *et al.*, 1996; Lewis *et al.*, 1996; Beauchemin *et al.*, 1998; Krause *et al.*, 1998; Yang *et al.*, 1998). Pinos (1999) encontró una interacción entre la calidad del forraje y la respuesta a la enzima, porque el efecto fue mayor en alfalfa comparado con un ballico. Dawson y Tricarico (1999), observaron incrementos en la producción de leche (0.28 a 2.8 kg d⁻¹) al proporcionar 15 g de Fibrozyme, lo cual asociaron a un mayor consumo de materia seca y de nutrientes digestibles. Sin embargo, algunos estudios no han tenido éxito, quizá porque han usado enzimas celulolíticas en dietas a base de granos, cuando las condiciones de acidez limitan la actividad de las enzimas celulolíticas (ZoBell *et al.*, 1998), o la magnitud de los cambios es poco relevante por la cantidad de fibra de la ración (Maki *et al.*, 1998). Otra posible causa a la falta de respuesta de las enzimas, es que el sustrato usado no corresponda al de la especificidad de la enzima, a la falta de contacto con el sustrato o a la falta de protección de las enzimas (Harris, 1998). Otro problema puede deberse a la falta de contacto de la enzima con el sustrato. Lewis *et al.* (1996), proporcionaron una mezcla de enzimas, en forma directa a bovinos o asperjada al forraje, y encontraron que se incrementó la digestibilidad cuando el producto fue asperjado, pero la adición directa no tuvo efectos.

Perfil de ácidos grasos de leche

Se muestran en el cuadro 4; la adición de enzimas, no altero la concentración de la mayoría de los ácidos grasos. La leche de las cabras donde se incluyeron las enzimas fibrolíticas exógenas en la dieta tuvieron una mayor concentración de ácido palmitoleico ($P<0.001$), ácido CIS-10-heptadecanoico ($P=0.021$) y ácidos grasos monoinsaturados ($P=0.043$) y más bajo contenido de ácido linoleico ($P=0.035$), ácido linolénico ($P=0.023$) y ácidos grasos saturados ($P=0.047$) que la leche de las cabras del grupo control. Las cabras que recibieron las enzimas exógenas tendieron a tener menor concentración de ácido oleico ($P=0.073$), mayor ($P=0.072$) ácido capríco y más baja concentración de ácidos grasos de cadena corta ($P=0.097$) que las cabras del grupo control.

Cuadro 5. Perfil de ácidos grasos (g/100 g del total de ácidos grasos esterificados) de cabras lecheras Alpino Frances alimentadas con una dieta basal y complementadas con enzimas celulolíticas exógenas (2 mL/kg MSI) durante el primer tercio de la lactancia (60 días)

Acido graso	Dietas			Valor de P
	Control	Enzimas	EEM	
Caproico (C6:0)	2.34	2.26	0.061	0.340
Caprírico (C10:0)	11.2	10.5	0.26	0.072
Laurico (C12:0)	5.4	5.0	0.16	0.113
Miristoleico (C14:1)	0.189	0.169	0.0092	0.134
Palmitoleico (C16:0)	0.06	1.22	0.023	<0.001
Heptadecanoico (C17:0)	0.97	1.01	0.031	0.432
Cis-10-heptadecanoico (C17:1)	0.29	0.37	0.023	0.021
Estearico (C18:0)	8.7	9.4	0.40	0.247
Oleico (C18:1)	18.9	20.5	0.57	0.073
Linoleico (C18:2)	2.9	2.6	0.12	0.035
Linolenico (C18:3)	0.53	0.44	0.028	0.023
Linoleo Conjugado (CLA)	0.68	0.76	0.050	0.231
Araquidónico (C20:4)	0.39	0.43	0.047	0.600
AGCC	18.3	17.3	0.39	0.097
AGCM	49.6	48.5	0.64	0.234
AGCL	32.2	34.0	0.79	0.112
AGS	75.0	73.4	0.55	0.047
AGMI	20.5	22.2	0.58	0.043
AGPI	4.5	4.2	0.18	0.200
Relación AGPI/AGS	0.060	0.057	0.0025	0.346

De manera particular, la leche de las cabras que consumieron las enzimas exógenas presentaron mayor concentración de ácidos grasos mono-insaturados que la leche de las cabras del grupo control. Los ácidos grasos de la leche originados principalmente de plasma (60%) o por la síntesis *de novo* en la glándula mamaria a partir de acetato 2-idroxibutirato que se origina como resultado de la fermentación ruminal que involucra las enzimas acetil CoA carboxilasa y la sintetasa de ácidos grasos (Kolić et al; 2014). Los ruminantes no sintetizan ácidos grasos poliinsaturados; consecuentemente, su concentración en la leche depende de la cantidad absorbida en los intestinos. Los resultados en el presente estudio pueden deberse a la alteración del contenido de la producción de ácido acético y propiónico en el rumen como resultado de una mayor digestión de la fibra. El resultado directo de las proporciones de ácidos grasos volátiles desplazados podría elevar la disponibilidad de precursores para la síntesis de ácidos grasos, durante la lactancia temprana cuando la ingesta de nutrientes se retrasa según la demanda de nutrientes. (Eun et al. 2007). Gado et al. (2009) informaron que la dieta suplementada mostró mayores proporciones de acetato, propionato y butirato ruminal. Puede ser concluido dentro de este estudio que en las regiones tropicales de México, la adición de células fibrolíticas exógenas a razón de 2 ml/kg de materia seca en la dieta de cabras alpinas francesas en lactancia da como resultado un mayor consumo y digestibilidad del alimento y mejora la producción y composición de la leche.

Aproximadamente el 50% de los ácidos grasos de la leche se sintetizan en la glándula mamaria para acetato de la sangre y b-idroxibutirato por acción de acetil CoA carboxilasa y ácido graso sintetasa (FAS) los remanentes provienen de la dieta (aproximadamente 40-45%) y la movilización de reservas de lípidos corporales del animal, en proporciones variables de acuerdo a la etapa de lactancia (Chillard et al; 2000) tales porcentajes pueden variar significativamente con la manipulación de la dieta dado que las células glandulares de la ubre

no tienen capacidad enzimática para alargar la cadena de carbono de 16 a 18 átomos, los ácidos grasos neo-sintetizados se componen de una cadena corta y una cadena media (de 4:0 a 16:0). La mitad del ácido palmítico en la leche (16:0) proviene de la síntesis endógena y la otra mitad de la dieta. La presencia de ácidos grasos de cadena corta y media en la leche se deriva de una alteración específica de los ácidos grasos en la lactación de los rumiantes. De hecho, a diferencia de las especies no ruminantes, los ácidos grasos de la glándula mamaria ruminante exhiben la translocación con carga y liberación para cadenas de acil de 2 y doce átomos de carbono en longitud. (Barber et al; 1997; Chillard et al; 2000) los ácidos grasos con una longitud igual o mayor a 18 átomos de carbono en la dieta, influyen de manera más eficaz en la formación de ácidos grasos de cadena larga en la leche. La transferencia de ácidos grasos del plasma al tejido mamario puede describirse mediante el modelo cinético de Michaelis-Menten, con una velocidad máxima (V_m) y Michaelis constante (K_m) de 22 a 32 mg/100 ml, respectivamente. (Baldwin et al; 1980). Este proceso, junto con la biohidrogenación del rumen y la digestión en el intestino, influyen en la eficiencia de la transferencia de ácidos grasos de los alimentos a la leche. Los ácidos grasos insaturados de cadena larga inhiben las enzimas lipogénicas de la glándula mamaria y, en particular, interviene con la actividad de la acetil CoA carboxilasa (enzima limitante de la síntesis de ácidos grasos). De hecho la administración de dietas que contenían una gran cantidad de grasa rica en ácidos grasos de cadena larga AGCL o la infusión de AGCL directamente en el duodeno de vacas y cabras (Kitesa et al; 2001) marcó una disminución de la grasa en la leche, debido al bloqueo de la síntesis endógena de ácidos de cadena corta y mediana. Además, los ácidos grasos poliinsaturados C 20 y C 22 pueden reducir la absorción mamaria de ácidos grasos insaturados de cadena media. AGICL del plasma, lo que influye en la lipoproteína lipasa de la glándula mamaria (Storri et al; 1974) estudios recientes sobre la disminución de la grasa de la leche en vacas lecheras han

demostrado un efecto específico del trans-10, cis-12 CLA y del isómero trans-10 18:1 sobre enzimas lipogénicas de la glándula mamaria (Lóor et al; 2005) aunque la administración directa de trans-10 cis-12 CLA a vacas lecheras y ovejas inhibió la síntesis de la grasa en la leche (Baumgrad et al; 2000; Lock et al; 2006). Por otra parte en cabras lecheras, Andrade y (2006a) informaron que la lipogénesis mamaria en cabras lecheras no fue disminuida por trans-10, cis-12 CLA infundido post-ruminalmente. Por otro lado, la administración de un suplemento encapsulado de lípidos CLA en cabras alpinas dio como resultado una reducción de la síntesis de grasa láctea de manera similar a la observada en vacas lecheras. Sin embargo, las comparaciones de estas respuestas sugirieron que el grado de reducción en la síntesis rápida de la leche es menor en las cabras que en las vacas lecheras y ovejas.

CONCLUSION

La inclusión de enzimas fibrolíticas exógenas en la alimentación de cabras lecheras Alpina Frances, mejora la producción de leche, y tuvieron una mayor concentración de ácido palmitoleico, ácido CIS-10-heptadecanoico y ácidos grasos monoinsaturados y más bajo contenido de ácido linoleico, ácido linolénico y ácidos grasos saturados que la leche de las cabras del grupo control.

LITERATURA CITADA

- Abraham A. Agraz, *Caprinotecnia 2*, Noreiga Editores, Editorial Limusa, Primera edición, 1989. pp. 1571.
- American Dairy Goat Association. 2004. Goat Milk Facts (en línea). Consultado 5 agosto 2017. Disponible en: <http://members.aol.com/drinkigoatsmilk/milkfacts.html>
- Bang HO, Dyerberg J, Nielsen AB. Plasma lipid and lipoprotein pattern in Greenlandic West-coast Eskimos. *Lancet* 1971; 1: 1143-5.
- Beauchemin, K. A., Jones, S. D. M., Rode, L. M., Sewalt, V. J. H., 1997. Effects of fibrolytic enzyme in corn or barley diets on performance and carcass characteristics of feedlot cattle. *Can. J. Anim. Sci.* 77, 645-653 pp.
- Beauchemin, K. A., Yang, W. Z., Rode, L. M., 1999. Effects of grain source and enzyme additive or grain source on site and extent of nutrient digestion in dairy cows. *J. Dairy Sci.* 82, 378-390 pp.
- Beauchemin, K.A., Rode L.M., Sewalt, V.J.H. 1995. Fibrolytic enzymes increase fiber digestibility and growth rate of steers fed dry forages. *Can. J. Anim. Sci.* 75, 641-644.
- Beauchemin, K.A., Rode, L.M., Maekawa, M., Morgavi, D.P., Kampen, R., 2000. Evaluation of a nonstarch polysaccharidase feed enzyme in dairy cow diets. *J. Dairy Sci.* 83, 543-553 pp.
- Bedford, M. R. 1993. Mode of action of enzymes. *J. Appl. Poultry Res.* 2, 85-92 pp.
- Bhat, M. K., Hazlewood, G. P., 2001. Enzymology and other characteristics of cellulases and xylanases. In: Bedford, M.R., Partridge, G.G. (Eds.), *Enzymes in Farm Animal Nutrition*. CABI Publishing, Wallingford, Oxon, UK, 11-60 pp.
- Biely, P., Vrsanka, M., Tenkanen, M., Klueofel, D., 1997. Endo- β -1,4-xylanase families: differences in catalytic properties. *J. Biotechnol.* 57, 151-166.
- Bohinsky, R. C., 1991. *Bioquímica*. Addison-Wesley Iberoamericana, S.A. México D. F. 173.225 pp.
- Burr ML, Fehily AM, Gilbert JF, Rogers S, Holliday RM, Sweetnam PM et al. Effects of changes in fat, fish, and fibre intakes on death and myocardial reinfarction: diet and reinfarction trial (DART). *Lancet* 1989; 2: 757-61.
- Burroughs, W., Woods, W., Ewing, S.A., Greig, J., Theurer, B., 1960. Enzyme addition to fattening cattle rations. *J. Anim. Sci.* 19, 458-464.
- Christie, W. W. 1982. A simple procedure for rapid transmethylation of glycerolipids and cholesteryl esters. *J. Lipid Res.* 23:1072-1075.
- Chouinard, P.Y., L. Corneau, D. M. Barbano, L.E. Metzger and D. E. Bauman. 1999. Conjugated linoleic acids alter milk fatty acid composition and inhibit milk fat secretion in dairy cows. *J. Nutr.* 129:1579-1584.
- CAPRA. 2004. La composición de la leche de cabra y su papel en la alimentación humana (en línea). Consultado 16 nov. 2004. Disponible en: <http://www.iespana.es/CAPRA/HOMBRE/HOMBRE.HTM>
- Coughlan, M.P., Hazlewood, G.P., 1993. B-1, 4-D-xylan-degrading enzymes systems: Biochemistry, molecular biology and applications. *Biotechnol. Appl. Biochem.* 17, 259-289.
- DARNTON, I; COVENEY, J.; DAVEY, G.R. 1987. Goat milk, nutritional and public health aspects: a review. *Food Technology in Australia* 39(12):572-688.

- Eun, J.-S., Beauchemin, K.A, and Schulze, H. (2007). Use of an *in vitro* fermentation bioassay to evaluate improvements in degradation of alfalfa hay. *Animal feed Science and technology* 35, 315-328
- Feng, P., C. W. Hunt, W. E. Julien, K. Dickinson, and T. Moen. 1992b. Effect of enzyme additives on in situ and in vitro degradation of mature coolseason grass forage. *J. Anim. Sci.* 70 (Suppl. 1): 309 (Abstr.).
- Feng, P., C. W. Hunt, W. E. Julien, S. Hacnny, and G.T. Pritchard. 1992a. Effect of enzyme additives to cool-season grass forage on voluntary intake and digestive function in mature beef steers. *J. Anim. Sci.* 70 (Suppl. 1): 310.
- Feng, P., Hunt, C. W., Pritchard, G. T., Julien, W. E., 1996. Effect of enzyme preparations on in situ and in vitro degradation and in vivo digestive characteristics of mature coolseason grass forage in beef steers. *J. Anim. Sci.* 74, 1349-1357 pp.
- Firkins, J. L., Weiss, W. P., Eastridge, M. L., Hull, B. L., 1990. Effects of feeding fungal culture extract and animal-vegetable fat on degradation of hemicellulose and on ruminal bacterial growth in heifers. *J. Dairy Sci.* 73, 1812-1822 pp.
- Frumholtz, P., 2001. Enzimas para dietas de ganado lechero-de la investigación a la aplicación en campo. In: Memorias del 2do. Seminario biotecnología para la alimentación animal. AMENA. México. D. F. 37-47 pp.
- Frumholtz, P., Beauchemin, K., 1999. El uso de las enzimas en los rumiantes. In: Memorias del seminario de Biotecnología para la alimentación animal. Asociación Mexicana de Especialistas en Nutrición Animal A.C. 85-94 pp.
- Gado, H. M., Salem, A. Z., Robinson, P. H. and Hassan, M. (2009). Influence of exogenous enzymes on nutrients digestibility, extent of ruminal fermentation as well as milk production and composition in dairy cows. *Animal feed Science and Technology* 154, 36-46
- GILBERE, G.; HOM, D.A. 2002. The magic of goat milk (en línea). Consultado 16 nov. 2004. Disponible http://freedompressonline/FPO_featuredArticles_carpa.htm
- HAENLEIN, G.F.W. 2002. Milk and Meat Products (en línea). Consultado 31 oct. 2004. Disponible en: http://goatconnection.com/articles/publish/article_73.shtml
- Hara, A, and N.S. Radin. 1978. Lipid extraction of tissues with a low toxicity solvent. *Anal. Biochem.* 90:420-426.
- Harris, B. 1998. The emerging role of enzymes in ruminants diets: at long last, a breakthrough. Udder information. Dr. Harris Guide to maximizing dairy performance. [http:// www. Altech-bio.com/sder98.htm](http://www.Altech-bio.com/sder98.htm). pp:1-13.
- Headon, D.R., 1993. Activity analysis of enzyme under field conditions. In: Wenk, C. y Boessinger, M. (Eds) *Enzymes in Animal Nutrition. Proceedings of the 1st Symposium.* Kartause, Switzerland, 233-240 pp.
- Hofmann, R.R. 1993. Anatomía del conducto gastrointestinal. pp. 15-46. In: *El ruminante: Fisiología digestiva y nutrición.* 1993. Church D.C. (ed.) Acribia. Zaragoza España.
- Hristov, A.N., McAllister, T.A. and Cheng, K.-J., 1998a. Stability of exogenous polysaccharide-degrading enzyme in the rumen. *Anim. Feed Sci. Technol.* 76, 165-172 pp.
- Hristov, A.N., McAllister, T.A., Cheng, K.-J., 1996. Exogenous enzymes for ruminants. *Proceedings of 17th Western Nutrition Conference.* Edmonton, Alberta, 51-61 pp.
- Hristov, A.N., McAllister, T.A., Cheng, K.-J., 1998b. Effect of dietary or abomasal supplementation of exogenous polysaccharide-degrading enzyme supplementation on rumen fermentation and nutrient digestibility. *J. Anim. Sci.* 76, 3146-3156 pp.

- Jerry belanger, *Cría moderna de cabras lecheras*, Editor Countryside and small stock journal. 307p.
- KHOLIF, A.E., KHATTAB,H.M., EL-SHEWY, A. A., SALEM, A. Z. M., KHOLIF, A. M., EL- SAYED, M. M., GADO, H. M. and MARIEZCURRENA, M. D. (2014) Nutrient digestibility, ruminal fermentation activities, serum parameters and milk production and composition of lactating goats fed diets containing rice straw treated with *Pleurotus ostreatus*. *Asian-Australasian Journal of animal Sciences* 27, 357- 364.
- KNIGHTS, M.; GARCIA, G.W. 1997. The status and characteristics of the goat (*Capra hircus*) and its potential role as a significant milk producer in the tropics, a review. *Small Ruminant Research* 26 (3): 203-215)
- Kopency, J., Marounek, M., Holub, K., 1987. Testing the suitability of the addition of *Trichoderma viride* cellulases to feed rations for ruminants. *Zivocisna vyroba* 32, 587-592 pp.
- Kung, L. Jr., 1996. Direct-fed microbial and enzyme feed additives. In: Muirhead S. (Ed.) *Direct-Fed Microbial, Enzyme and Forage Additive Compendium*. The Miller Publishing Company, Minnetonka, Minnesota, 15–20 pp.
- Kung, L., 1999. Productos microbianos para la alimentación directa y enzimas en la nutrición de rumiantes. In: Memoria del Seminario de biotecnología para la alimentación animal. AMENA. 71-81 pp.
- Laguna, J., Piña, E., 2002. *Bioquímica de laguna*. Ed. Manual moderno 5ta ed. México. 727 p.
- Lewis, G. E., Hunt, W. C., Sánchez, K. W., Treacher, J. R., Pritchard, T. G., and Feng, P., 1996. Effect of direct-fed fibrolytic enzymes on the digestive characteristics of a forage-based diet fed to beef steers. *J. Anim. Sci.* 74:3020-3028 p.
- Madigan, M. T., Martinko, J. M., Parker, J., 1998. *Biología de los microorganismos*. Octava edición. Prentice may internacional. España. 75 pp.
- Martín, S. A. and Nisbet, J., D. 1992. Effect of direct-fed microbial on rumen microbial fermentation. *J. Dairy. Sci.* 75:1736-1744.
- McAllister, T. A. K., Stanford, H. D., Bae, R. J., Treacher, A. N., Hristov, J., Baah, J. A., Cheng, K. J., 2000. Effect of a surfactant and exogenous enzymes on digestibility of feed and on growth performance and carcass traits of lambs. *Can. J. Anim. Sci.* 80: 35-44 pp.
- McAllister, T. A., Bae, H. D., Jones, G. A., Cheng, K. J., 1994a. Microbial attachment and feed digestion in the rumen. *J. Anim. Sci.* 72, 3004-3018 pp.
- McAllister, T. A., Hristov, A. N., Beauchemin, K. A., Rode, L. M., Cheng, K.-J., 2001. Enzymes in ruminant diets. In: Bedford, M.R., Partridge, G.G. (Eds.), *Enzymes in Farm Animal Nutrition*. CABI Publishing, Wallingford, Oxon, UK, pp. 273–298 pp.
- McAllister, T.A., Oosting, S.J., Popp, J.D., Mir, Z., Yanke, L.J., Hristov, A.N., Treacher, R.J., Cheng, K.-J.,1999. Effect of exogenous enzymes on digestibility of barley silage and growth performance of feedlot cattle. *Can. J. Anim. Sci.* 79, 353-360.
- Minato, H., Endo, A., Ootomo, Y., Uemura, T., 1966. Ecological treatise on the rumen fermentation. II. The amylolytic and cellulolytic activities of fractionated bacterial portions attached to the rumen solids. *J. Gen. Appl. Microbiol.* 12, 53-69 pp.
- Muirhead, S., 1996. *Direct fed microbial, enzyme and forage additive compendium*, 3rd ed. The Miller Publishing Company, Minnetonka, Minnesota. 391 p.
- Newbold, C. J. 1995. Microbialfeed additives for ruminants. In: Wallace R. J. and A. C. Chesson. (eds.). *Biotechnology in animal feed and animal feeding*. C V H. Publishers, New York, N. Y. USA. Pp: 259-278.

- NRC. 2007. Nutrient requirements of small ruminants: sheep, goats, cervids, and new camelids. Washington (DC): National academics Press. 362 p.
- Reily, J.P., 1981. Xylanase: Structure and function. In: Holander, A., Rapson, R., Rogers, P., San Pietro, A., Valentin, R., Wolf, R., (Eds). Trends in biology of fermentations for fuels and chemical. Ed. Plenum Press. New York. Pp. 111-119.
- Sheppy, C., 2001. The current feed enzyme market and likely trends In: Bedford, M.R., Partridge, G.G. (Eds.), Enzymes in Farm Animal Nutrition. CABI Publishing, Wallingford, Oxon, UK, 1-10 pp.
- Taylor, L. C., Headon, D. R., 1992. Introducción a las enzimas. In: biotecnología en la industria de la Alimentación Animal. Alltech, vol. III. México, D.F. 122 p.
- Titi, H. R., Richardson, C., R. and Cobb, W., C. 1998. Effects of fibrolitic enzyme treatment on forage dry matter and organic matter disappearance. J. Anim. Sci. 76 (Suppl 1):293.
- Williams, A. G., and Strachan, N., H. 1984. The distribution of polysaccharidedegrading enzymes in the bovine rumen digest ecosystem. Current Microbiology 10:215-220.
- Yang, W. Z., Beauchemin, K. A., Rode, L. M., 1999. Effects of enzyme feed additives on extent of digestion and milk production of lactating dairy cows. J. Dairy Sci. 82, 391-403 pp.
- Yang, W. Z., Rode, L., M. and Beauchemin, K., A. 1998. Effects of fibrolityc enzyme additives on milk production of dairy cows. J. Anim. Sci. 76 (Suppl. 1):320.
- Zinn, R. A. and Salinas, J. 1999. Influence of fibrozyme on digestive function and growth performance of feedlot steers fed a 78 % concentrate growing diet. In: Biotechnology in the Feed Industry. Lyons, T. P. and K. A. Jacques (eds.). Proceedings of the Fifteenth Annual Symposium Nottingham University Press. Loughborough, Leics, UK. pp: 313-319.
- ZoBell, D. R., McAllister, T. A., Hristov, A. N., Popp, J. O., Entz, T. and Cook, R. B. 1998. The effect of including a U-glucanase preparation in the finishing diet on feed efficiency and carcass characteristics of yearling feedlot bulls intended for slaughter. J. Anim. Sci. 76 (Suppl. 1): 300.