

Digestión de materia seca, proteína cruda y aminoácidos de la dieta de vacas lecheras¹

Digestion of dry matter, crude protein and amino acids of the diet dairy cows

Mónica Duque-Quintero², Ricardo Rosero-Noguera³, Marta Olivera-Ángel²

Resumen

El objetivo de este trabajo fue determinar la digestión de materia seca (MS), proteína cruda (PC) y aminoácidos (AA) en vacas lecheras. Fueron utilizadas dos vacas canuladas para la medición de la tasa de pasaje (Kp), la degradabilidad ruminal (DR) *in situ* y la digestibilidad intestinal (DI) por sonda abomasal. Los datos para calcular la Kp fueron analizados con el procedimiento NLIN de SAS, y mediante estadística descriptiva para la DR y DI de la MS, PC y AA del pasto kikuyo (*Pennisetum clandestinum*), un suplemento comercial y dos fuentes de AA protegidos (metionina protegida (MetP) y lisina protegida (LysP)). Se encontró una Kp y un tiempo medio de retención ruminal de 0,036 h⁻¹ y 27,4 h. Los mayores valores de degradabilidad ruminal de la materia seca y proteína cruda, fueron para el kikuyo (69,0 y 61,8%) y el concentrado (84,7 y 77,2), seguido de MetP (60,2 y 66,7%) y LysP (6,72 y 11,4%). El mayor porcentaje de aminoácidos degradables en el rumen (AADR) fue mayor para el kikuyo y el concentrado, variando entre 58,7 y 68% para el forraje, y 76,1 y 82,9% para el concentrado. La DR de LysP y MetP fue de 11,5 y 65,8%, respectivamente. La digestibilidad intestinal de los aminoácidos (% AANDR) varió entre 42,3 y 77,4% para el kikuyo, y 42,2 y 59,3% para el concentrado. Los valores para los aminoácidos protegidos fueron de 42,1 en LysP y 58,6 para MetP.

Palabras claves: degradabilidad ruminal, digestibilidad intestinal, metionina protegida, lisina protegida, tasa de pasaje.

Abstract

The aim of this study was to determine the digestion of dry matter (MS), crude protein (PC) and amino acids (AA) in dairy cows. Two cannulated cows were used for the determination of passage rate (Kp), *in situ* ruminal degradability (DR) and intestinal digestibility (DI) by abomasal catheter. The data to calculate Kp was analyzed with NLIN procedure by SAS, and descriptive statistics for DR and DI of MS, PC and AA from Kikuyu grass (*Pennisetum clandestinum*), a commercial supplement and two sources of rumen-protected AA. The study showed a Kp and a ruminal retention time of 0.036 h⁻¹ and 27.4 h. The highest values from DR of MS and CP were from Kikuyu grass

¹ Recibido:18 de julio, 2016. Aceptado: 22 de agosto, 2016. Este trabajo formó parte de la tesis doctoral del primer autor, titulada: "Efecto de la suplementación con metionina y lisina protegidas sobre el flujo de aminoácidos, producción de leche y concentración de proteínas lácteas". Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia.

² Universidad de Antioquia, Facultad de Ciencias Agrarias. Grupo de Investigación Biogénesis. Carrera 75 # 65-87, AA 1226, Medellín, Colombia. monicadu82@gmail.com (autor para correspondencia), martha.olivera@udea.edu.co

³ Universidad de Antioquia, Facultad de Ciencias Agrarias. Grupo de Investigación en Ciencias Agrarias – GRICA. Carrera 75 # 65-87, AA 1226, Medellín, Colombia. ricnoguera@gmail.com



(69.0 and 61.8%) and concentrate (84.7 and 77.2%), followed by MetP (60.2 and 66.7%) and LysP (6.72 and 11.4%). The highest percentages of rumen indegradable amino acids (AADR) were from Kikuyu and concentrate, varying between 58.7 and 68% in forage, and 76.1 and 82.9% in the concentrate. The DR was 11.5 and 65.8% in LysP and MetP, respectively. The DI of AA (%AADR) varied between 42.3 and 77.4% for Kikuyu and 42.2 and 59.3% for concentrate. The values for the protected amino acids were 42.1 for LysP and 58.6 for MetP.

Keywords: ruminal degradability, intestinal digestibility, rumen-protected methionine, rumen-protected lysine, passage rate.

Introducción

Los actuales sistemas de alimentación para el ganado lechero están basados en las proteínas digeribles en el intestino delgado (ID) y, más importante aún, en la cantidad de aminoácidos (AA) digeribles. Los AA que llegan al ID provienen de tres fuentes: proteína no degradada en el rumen (PNDR), proteína microbiana (PMicrob) y proteína endógena (PE).

La PNDR es aquella que escapa de la degradación ruminal y pasa al abomaso e intestino, donde se da su digestión y absorción. La PMicrob se forma en el rumen a partir del amoníaco producido por la degradación de la proteína digerible en rumen (PDR) e hidratos de carbono fácilmente disponibles como fuente energética. Las PMicrob son las células de bacterias, hongos y protozoarios, que suministran más del 60% de la proteína total que alcanza el intestino delgado (NRC, 2001). Por tanto, la clave para la utilización eficiente del alimento es formular raciones para optimizar la síntesis de PMicrob y el suministro PNDR que lleguen al ID y aporten un perfil de AA adecuado para cubrir los requerimientos de los animales.

Recientemente, productores, investigadores y nutricionistas, se han interesado en incrementar los niveles de proteína láctea en vacas lecheras, porque este es un factor importante en el sistema de pago de la leche. Algunos estudios que se han llevado a cabo con la finalidad de incrementar las respuestas productivas del ganado lechero, no encontraron efectos en la adición de mayor cantidad de proteína, lo que puede ser explicado por el exceso de proteína cruda (PC) en la dieta, un balance energético negativo o un posible desbalance de AA (Chiou et al., 1995; Van Straalen et al., 1997).

Algunos autores han publicado que AA como lisina (Lys), metionina (Met) y leucina (Leu) son el primer, segundo y tercer AA más limitante o co-limitantes para la síntesis de proteína láctea (Schwab et al., 1992; Rulquin y Delaby, 1997). Si el perfil de AA que llega al ID no tiene suficiente cantidad disponible de Lys, Met y Leu, la producción y síntesis de proteína en la glándula mamaria será limitada. El NRC (2001) estableció en sus recomendaciones que la relación Lys:Met debe ser 3:1, para que los requerimientos de estos dos aminoácidos sean cubiertos principalmente en dietas basadas en ensilaje de maíz, subproductos de maíz, proteínas de origen animal y leguminosas.

En los últimos años, la industria ha desarrollado productos comerciales de AA protegidos con el fin de cubrir las deficiencias de Met y Lys que pueda dejar la dieta ofrecida a los animales (Robinson, 1996; 2009). La suplementación con estos dos AA, en algunos casos, ha tenido efectos positivos en la producción y composición de la leche (Piepenbrink et al., 2004; Socha et al., 2005; Cabrita et al., 2011), y reducción del nitrógeno ureico en leche (MUN) (Bach et al., 2000). Sin embargo, en otros estudios no se observaron estos efectos (Misciattelli et al., 2003; Davidson et al., 2008; Benfield et al., 2009; Swanepoel et al., 2010).

Diferentes compañías han desarrollado productos protegidos de metionina y lisina (MetP y LysP), los cuales son resistentes a la degradación ruminal, por lo que, aportan una alta cantidad del AA al ID y de esta manera compensan las deficiencias de la dietas. La LysP puede ser una matriz de L-Lisina-HCl y aceite vegetal resistente a la acción física y microbiana del rumen. Por su parte, los productos de MetP son el aminoácido cubierto por una delgada capa de etilcelulosa (Kudrna et al., 2009).

Una de las posibles dificultades que se evidencia en la falta de respuesta a la suplementación con AA, es que no se cuenta con la información precisa del metabolismo de la proteína y de los AA en el total del tracto gastrointestinal (TGI) de rumiantes, es decir, existe un faltante de información sobre la degradación ruminal y la digestibilidad intestinal de cada uno de los aminoácidos en los diferentes alimentos que componen la dieta de los animales.

Los sistemas de producción especializada de leche en Colombia carecen de información relacionada con la cantidad de proteína y aminoácidos metabolizables, perfil de AA de la dieta que llega al ID y relación de Lys:Met de la proteína metabolizable (PM), información que es necesaria para mejorar la formulación de raciones. Se hace imprescindible entonces, conocer la cantidad de PM que llega al intestino delgado del animal desde sus tres fuentes principales: proteína no degradable en rumen (PNDR), proteína microbiana (PMicrob) y proteína endógena (PE). Conocer la cantidad de PNDR y aminoácidos no degradables en rumen (AANDR) que pasan y son absorbidos en el ID para el pasto kikuyo y el suplemento concentrado constituyen un primer paso para estimar los balances de proteína y AA en vacas lecheras. Lo anterior explica la necesidad de obtener valores de degradabilidad ruminal y digestibilidad intestinal de la MS, PC y AA para conocer los aportes de los diferentes alimentos que forman parte de la dieta del animal.

Para la determinación de estos valores es necesario tener en cuenta la tasa de pasaje (kp) de la fracción sólida del alimento, debido a que es una variable que influye sobre la composición de la población microbiana, la eficiencia de fermentación ruminal, la regulación del consumo y la cantidad de proteína y AA que llega al ID sin ser degradados en el rumen (Bartocci et al., 1997). El mayor o menor tiempo de retención en el retículo-rumen influencia los procesos de digestión y asimilación de los nutrientes en el animal, aumentando o disminuyendo los aportes de PM o AA hacia el ID.

El objetivo de este trabajo fue determinar la digestión de la materia seca, proteína cruda y aminoácidos en vacas lecheras.

Materiales y métodos

Localización

El trabajo fue realizado en febrero y marzo del 2014, en la hacienda “La Montaña” propiedad de la Universidad de Antioquia, San Pedro de los Milagros, Antioquia, Colombia. Esta se encuentra ubicada a 2350 msnm, con una temperatura promedio de 15 °C y una humedad relativa promedio de 72%, en una formación ecológica de bh-MB (IDEAM, 1997).

Animales

Se utilizaron dos vacas secas (en periodo no productivo) canuladas de la raza holstein para determinar la tasa de pasaje, degradabilidad ruminal y digestibilidad intestinal de la MS, PC y AA del pasto kikuyo (*Pennisetum clandestinum*), del suplemento comercial y los de AA protegidos.

Manejo y alimentación

Los animales se manejaron en un sistema de pastoreo rotacional en franjas con pasto kikuyo, se suplementaron con 2 kg de un alimento comercial durante catorce días previos al inicio del experimento y durante el periodo experimental, con el fin de tener las mismas condiciones de un sistema de lechería especializada para la medición de

la tasa de pasaje y la incubación ruminal de las diferentes muestras de alimento. En el potrero los animales tuvieron libre acceso a agua fresca y sal mineral.

Tasa de pasaje

La medición de la tasa de pasaje se realizó antes de la prueba de degradabilidad ruminal, los valores fueron determinados usando el método de la fibra mordantada con cromo (Cr), en el cual, la fibra detergente neutro (FDN) del kikuyo fue tratada a los sesenta días con dicromato de potasio ($K_2Cr_2O_7 \cdot 2H_2O$), como marcador de la fase sólida de la digesta (Uden et al., 1980), luego se disolvió en agua caliente y se adicionó a las muestras de FDN del kikuyo previamente molido a 4 mm (72 g de $K_2Cr_2O_7$ /kg MS). La mezcla de dicromato de cromo y FDN del kikuyo se llevó a 100 °C durante veinticuatro horas en una estufa de aire forzado. Posteriormente, el material se lavó con agua corriente durante una hora y se dejó toda la noche en una solución de ácido ascórbico con un pH < 4,5, con la finalidad de eliminar completamente el Cr que no se adhirió a la FDN. Al siguiente día, el material se lavó por última vez durante una hora y se secó durante doce horas a 100 °C para finalmente utilizarse (Ramanzin et al., 1991).

A cada animal se le suministró por la fístula ruminal 75 g de fibra mordantada (Campos et al., 2007) con 4,43% de Cr en una única dosis (Pereira et al., 2005). Aproximadamente, 150 g de heces se tomaron directamente del recto de los animales a las 0, 8, 12, 16, 20, 24, 32, 36, 48, 60 y 84 h después de colocada la fibra mordantada en el rumen. Las concentraciones de Cr en las heces se determinaron por espectrometría de absorción atómica (Holden et al., 1994).

La estimativa de la tasa de pasaje (k) en el rumen se obtuvo mediante la metodología propuesta por Galyean (1997):

$$Y = A e^{-(k \cdot t)}, \text{ donde:}$$

Y= concentración del marcador (mg/kg).

A= parámetro de escala.

e= función exponencial (base de logaritmo natural = 2,7183) (Kendall et al., 2009).

k= tasa de pasaje ruminal (%/h).

t= tiempo de muestreo pos-dosificación.

El tiempo medio de retención en el rumen (TMRR) se calculó desde el parámetro K, usando la ecuación $TMRR = 1/k$ (Pereira et al., 2005).

Alimentos evaluados

Los alimentos usados fueron los componentes de una dieta completa para vacas lecheras de alta producción (kikuyo + suplemento comercial). Adicionalmente, se incluyeron dos fuentes de AA protegidos, MetP (metionina protegida) y LysP (lisina protegida), y capacho de maíz (cáscara) para descontar la contaminación microbiana (Cuadro 1). La lisina protegida que se utilizó era una matriz compuesta de mínimo 50% de Lys (L-lisina monohidrócloruro HCl), 49% de ácidos grasos protegidos ruminalmente sensibles al pH intestinal y 1% de lecitina de soya; mientras que la metionina protegida presentaba un contenido de 85% de metionina, 3% de fibra cruda y 1% de extracto etéreo.

Los alimentos se analizaron en los laboratorios NUTRILAB y el de Nutrición Animal ambos pertenecientes a la Universidad de Antioquia; se determinó su composición química según los métodos descritos por la AOAC (2002).

Cuadro 1. Composición nutricional de los alimentos de una dieta completa para vacas lecheras de alta producción (kikuyo + suplemento comercial) utilizados para determinar la digestión de aminoácidos. San Pedro de los Milagros, Antioquia, Colombia. 2014.

Table 1. Chemical composition of feeds in high-producing dairy cows diet (kikuyu + concentrate), used for amino acids digestion determination. San Pedro de los Milagros, Antioquia, Colombia. 2014.

	Kikuyo	Concentrado	MetP	LysP
MS total,%	10,9	90,2	98,2	97,4
PC,% MS	18,2	17,1	43,9	56,3
TDN,% MS	60,4	75,0		
EE,% MS	3,12	3,90	1,00 ¹	42,7
FDN,% MS	56,4	21,8	3,00 ¹	
FDA, % MS	31,4	16,5		
LDA,% MS	6,35	3,83		
CNE,% MS	11,4	47,2		
ENL (Mcal/kg de MS)	1,34	1,72	1,94 ¹	3,26 ²
Cenizas,% MS	10,9	10,0	1,50 ¹	
Ca,% MS	0,34			
P,% MS	0,31			
Lecitina de soya,% MS				1,00 ²
Met,% MS	0,31	0,58	45,3	
Lys,% de MS	0,95	1,09		37,7

^{1,2} Valores de referencia reportados por la casa comercial, MetP: metionina protegida ruminalmente, LysP: lisina protegida ruminalmente, MS: materia seca, PC: proteína cruda, TDN: total de nutrientes digestibles, EE: extracto etéreo, FDN: Fibra en detergente neutro, FDA: fibra en detergente ácido, CNE: carbohidratos no estructurales = $100 - (\%FDN + \% PC + \% EE + \% cenizas)$, ENL: energía neta de lactancia, Met: metionina, Lys: lisina / Reference values reported by manufacturer, MetP: rumen-protected methionine, LysP: rumen-protected lysine, MS: dry matter, PC: crude protein, TDN: total digestible nutrient, EE: ether extract, FDN: neutral detergent fiber, FDA: acid detergent fiber, CNE: non-structural carbohydrates = $100 - (\% FDN + \% PC + \% EE + \% ash)$, ENL: net energy for lactation, Met: methionine, Lys: lysine.

Degradación *in situ* de la MS, PC y AA para las fuentes

Los valores de degradabilidad ruminal efectiva de cada fuente, se obtuvieron considerando una tasa de pasaje de la fracción sólida de 3,65%/h (valor determinado previamente). Dieciséis muestras de 4 g de cada alimento (forraje, concentrado, metionina y lisina protegidas) se colocaron en bolsas de polyester (15 cm largo x 7,5 cm ancho y un tamaño de poro de 50 μ m), y debido a que la contaminación microbiana podía ser importante, bolsas con capacho de maíz (molido a 2 mm), para descontar por diferencia las bacterias que pudieron adherirse a las bolsas (Gargallo et al., 2006). Todas las bolsas fueron introducidas en el rumen de cada vaca (8 bolsas/vaca), por un período de 27,4 h (tiempo de retención ruminal). Concluido este periodo, las bolsas se lavaron con agua corriente. Todas se secaron en una estufa de aire forzado a 65 °C por 48 horas, y los residuos de las bolsas se pesaron para obtener la degradabilidad de la MS por diferencia. Se realizó un pool del residuo ruminal de cada una de las fuentes, para determinar la concentración de PC (AOAC, 2002), el perfil de AA mediante cromatografía líquida de alta

eficiencia (HPLC) (Jajic et al., 2013) y para usarse en la determinación de la digestión posruminal. La MS, PC y AA desaparecidos en el rumen fueron calculados como la proporción entre la cantidad de muestra post y pre incubada, este valor fue expresado como porcentaje de MS, PC, PNDR, AA iniciales incubados y AANDR.

Digestibilidad posruminal de la proteína (PNDR)

Las muestras de forraje, concentrado, capacho de maíz y aminoácidos protegidos previamente incubados durante 27,4 horas, se sometieron a digestión intestinal utilizando un método *in vivo* descrito por Correa et al. (2010). En este método, 1,0 g del residuo resultante de la incubación ruminal se colocó en bolsas de nylon (2,0 x 1,5 cm) con un tamaño de poro de 11 μ m. Cincuenta bolsas móviles de nylon (BMN) por alimento, selladas al calor se colocaron en el abomaso de dos vacas holstein con cánula ruminal permanente (sonda de polietileno con diámetro externo de 20 mm y longitud de 1,6 m) (Correa et al., 2010). Las BMN se recuperaron en las heces, las cuales se colectaron tres veces al día durante las siguientes 120 h post-incubación. Para evitar la pérdida de las BMN, los animales experimentales se mantuvieron en un potrero pequeño, con el fin de no alterar el consumo de forraje y permitir acompañar la excreción fecal y la recuperación de las BMN (García et al., 2009). Posterior a la recuperación de las BMN en las heces, estas se lavaron con agua corriente, se secaron a 60 °C por 48 h y se mezclaron para obtener una muestra final por cada alimento (forraje, concentrado y AA protegidos). Sobre los residuos de las BMN se determinaron los contenidos de MS total, PC (AOAC, 2002) y perfil de AA por HPLC.

La digestibilidad posruminal de PNDR se calculó por la diferencia entre la cantidad de PC en el remanente después de la incubación ruminal y la cantidad de PC en las BMN colectadas en heces, los valores se expresaron como porcentaje de la proteína cruda total y PNDR. La digestibilidad total (DT) de la PC se obtuvo mediante la suma de la cantidad de proteína degradada en rumen y la PNDR digerida en el intestino del animal. De la misma manera, se calculó la digestibilidad total de los AA. Debido a que los valores de degradación y absorción de la PC en el capacho de maíz fueron mayores de lo esperado, fue imposible utilizar estos valores para descontar la contaminación microbiana.

Análisis estadístico

Los datos para calcular la tasa de pasaje se analizaron por regresión no lineal, usando el procedimiento NLIN (método iterativo Marquardt) de SAS (2001); mientras que, para el análisis de los datos de desaparición de la MS, PC y AA se utilizó estadística descriptiva. Se establecieron promedios y desviaciones estándar para cada uno de los alimentos utilizados.

Resultados y discusión

Tasa de pasaje

Se encontró una tasa de pasaje para la fracción sólida de la dieta de 3,65%/h, la cual estaba constituida por pasto kikuyo y suplemento comercial. La tasa de pasaje es esencial para determinar la degradabilidad efectiva de la MS, la PC y los AA a nivel ruminal, y la proporción que llega al intestino delgado de cada una de estas fracciones. Esto es apoyado por Hvelplund et al. (1992), quienes al evaluar la digestibilidad verdadera de diferentes alimentos, empleando la técnica de los sacos móviles, encontraron que incrementos en la degradabilidad ruminal de la proteína disminuyeron la digestibilidad intestinal de esta misma fracción.

Degradabilidad ruminal y digestibilidad posruminal de la MS y PC

La tasa de pasaje ruminal y el tiempo medio de retención ruminal (TMRR) de 27,4 h encontrados en este experimento, fueron empleados para estimar las fracciones degradables de los alimentos evaluados.

Las mayores degradabilidades ruminales de la MS fueron para el concentrado (84,7%) y pasto kikuyo (69,0%), seguidas de la MetP (60,2%). La digestibilidad aparente de la MS para el concentrado y MetP fueron las más altas de todos los alimentos evaluados (91,8 y 85,2%). Los menores valores fueron obtenidos con LysP (35,7%) (Cuadro 2).

Cuadro 2. Degradabilidad ruminal, digestibilidad posruminal y total del tracto gastrointestinal (TGI) de los diferentes alimentos de una dieta completa para vacas lecheras de alta producción (kikuyo + suplemento comercial). San Pedro de los Milagros, Antioquia, Colombia. 2014.

Table 2. Ruminal degradability, post-ruminal digestibility and total-tract digestibility of different feeds in high-producing dairy cows diet (kikuyu + concentrate). San Pedro de los Milagros, Antioquia, Colombia. 2014.

Parámetro	Kikuyo		Concentrado		LysP		MetP	
	Prom.	EEM	Prom.	EEM	Prom.	EE	Prom.	EE
% DRMS	69,0	0,46	84,7	0,23	6,73	0,37	60,2	1,64
% MSNDR	31,0	0,46	15,3	0,23	93,3	0,37	39,8	1,64
% MSNDRDI	14,0	0,21	7,06	0,11	29,0	0,12	25,0	1,03
% MSInd	17,0	0,25	8,24	0,12	64,3	0,26	14,8	0,61
% DIM	45,3	1,65	46,2	0,49	31,1	0,89	62,9	2,11
% DMS aparente	83,0	0,25	91,8	0,12	35,7	0,26	85,2	0,61

Prom.: promedio, EEM: error estándar de la media, MS: materia seca, LysP: lisina protegida ruminalmente, MetP: metionina protegida ruminalmente, % DRMS (MS degradable en el rumen) = $1 - [(g \text{ muestra pos-incubación ruminal} - g \text{ de la bolsa vacía}) / (g \text{ muestra incubada} * \%MS \text{ de la muestra})] * 100$, % MSNDR (MS no degradable en rumen) = $100 - \%DRMS$; % MSNDRDI (MS no degradable en rumen digestible en el intestino delgado) = $MSNDR * DIMS$; % MSInd (MS indigestible) = $\%MSNDR * ((100 - \%DIMS) / 100)$; % DIMS (digestibilidad intestinal de la MS) = $1 - [(g \text{ muestra en heces} - g \text{ de la bolsa vacía}) / (g \text{ muestra incubada en abomaso} * \%MS \text{ de la muestra})] * 100$, % DMS aparente (digestibilidad aparente de la MS) = $100 - MSInd$ / Prom.: average, EEM: Standard error of the mean, MS: Dry matter, LysP: Rumen-protected lysine, MetP: Rumen-protected methionine, % DRMS (Rumen degradability of dry matter) = $1 - [(g \text{ of sample post-ruminal digestion} - g \text{ of empty bag}) / (g \text{ pre-incubation sample} * \% \text{ dry matter of sample})] * 100$; % MSNDR (Ruminal undegradable dry matter digestible) = $100 - \%DRMS$; % MSNDRDI (Ruminal undegradable dry matter digestible into small intestine) = $MSNDR * DIMS$; % MSInd (indigestible dry matter) = $\%MSNDR * ((100 - \%DIMS) / 100)$; % DIMS (Intestinal digestibility of dry matter) = $1 - [(g \text{ sample in feces} - g \text{ of empty bag}) / (g \text{ of sample incubated into abomasum} * \% \text{ sample dry matter})] * 100$; % DMS aparente (Apparent digestibility of dry matter) = $100 - MSInd$.

Los alimentos que presentaron mayores porcentajes de PCDR fueron el concentrado y el pasto kikuyo con 77,2 y 61,8%, respectivamente (Cuadro 3). Para la fuente de metionina protegida (MetP), se encontró una alta PCDR (66,7%) y un bajo aporte de PCNDR (33,3%); no así para LysP, donde se obtuvo un porcentaje de PCDR y PCNDR de 11,4 y 88,6%, respectivamente.

Cuando se utilizan fuentes de AA protegidos se espera reducir su degradación ruminal, pero este efecto solo se observó para la LysP. Sin embargo, también se obtuvo una más baja digestibilidad intestinal de la PNDR de LysP (40,9%) que de MetP (59,2%).

En los Cuadros 2 y 3 puede observarse que la degradación ruminal de la MS y PC representaron un porcentaje más alto de la digestibilidad total aparente, dejando una menor proporción para ser digestible intestinalmente. Las mayores transformaciones y degradaciones del alimento se dieron en el rumen, quedando una proporción

Cuadro 3. Degradabilidad ruminal y digestión posruminal de la proteína de los alimentos evaluados de una dieta completa para vacas lecheras de alta producción (kikuyo + suplemento comercial). San Pedro de los Milagros, Antioquia, Colombia. 2014.

Table 3. Ruminal degradability and post-ruminal digestion of protein from feeds evaluated of complete diet for high-producing dairy cattle (kikuyo + commercial concentrate). San Pedro de los Milagros, Antioquia, Colombia. 2014.

Parámetro ¹	Kikuyo		Concentrado		LysP		MetP	
	Prom.	EEM	Prom.	EEM	Prom.	EE	Prom.	EE
% PCDR	61,8	0,57	77,2	0,34	11,4	0,35	66,7	1,37
% PCNDR	38,2	0,57	22,8	0,34	88,6	0,35	33,3	1,37
% PCNDRDI	21,9	0,33	12,9	0,19	36,2	0,14	19,7	0,81
% PC Ind	16,2	0,24	9,85	0,15	52,4	0,21	13,6	0,56
% DIPC	57,5	1,28	56,8	0,45	40,9	0,77	59,2	2,27
% DPC aparente	83,8	0,24	90,2	0,15	47,6	0,21	86,4	0,56

¹ EEM: error estándar de la media, EE: error estándar, LysP: lisina protegida ruminalmente, MetP: metionina protegida ruminalmente, % PCDR (% proteína cruda degradable en rumen)= 100 – (%PCNDR), % PCNDR (proteína cruda no degradable en rumen)= (g materia seca en el residuo ruminal *% proteína cruda en el residuo ruminal del alimento incubado)/g materia seca incubada en el rumen *% proteína cruda en el alimento) * 100, % PCNDRDI (% proteína cruda no degradable en rumen digestible intestinalmente)= %PCNDR *% DIPC/100, % PC Ind (% PC indigestible)= [(g de MS en heces *%PC en las heces)/(g de materia seca incubada en el abomaso *%PC en el residuo ruminal) * 100; DIPC (digestibilidad intestinal de la proteína cruda)= 100 –%PC Ind, % DPC aparente: digestibilidad aparente de la proteína cruda =% PCDR +% PCNDRDI / EEM: Standard error of the mean, EE: Standar error, Lysp: Rumén-protected lysine, MetP: Rumén protected methionine, % PCDR (% rumen degradability of crude protein)= 100 – (%PCNDR), % PCNDR (rumen undegradable crude protein)= (g of dry matter into ruminal residue *% crude protein into ruminal residue of incubated feed) / g dry matter incubated into rumen *% crude protein in feed) * 100, % PCNDRDI (% Rumén undegradable protein digestible by the intestine)= %PCNDR * % DIPC/100, % PC Ind (% Indigestible crude protein) = [(g of dry matter in feces *%PC in feces)/(g of dry matter incubated into abomasum *%PC in ruminal residue) * 100, DIPC (intestinal digestibility of crude protein)= 100 – PC Ind, % DPC aparente (apparent digestibility of crude protein)= % PCDR +% PCNDRDI.

muy baja disponible para su posterior digestión y absorción en el abomaso e intestino delgado, por lo que, se vuelve fundamental para el animal el aporte de proteína y AA oriundos de la proteína microbiana para cubrir sus requerimientos. Sin embargo, una mayor degradación de la PC y AA en el rumen no asegura un alto suministro de proteína microbiana hacia el ID, ya que si esta no está sincronizada con el aporte de energético de la ración, será convertida en amoníaco y finalmente en urea.

Los valores promedios de la degradabilidad ruminal y digestibilidad intestinal de la MS fueron mayores para el pasto kikuyo y alimento concentrado, que los encontrados por Correa et al. (2012) en vacas holstein, los cuales fueron de 37,1 y 12,4% para el kikuyo y de 58,4% y 39,3% para el concentrado, respectivamente. En otro trabajo, donde se evaluó el pasto kikuyo con una incubación previa en rumen de veinticuatro horas, y utilizando vacas con cánula duodenal, se obtuvieron valores de DRMS y digestibilidad posruminal de la MS de 56,0 y 29,8%, respectivamente (Caro y Correa, 2006). Las diferencias y similitudes de los resultados obtenidos con respecto a estos dos estudios, se pudieron deber principalmente al tiempo de incubación ruminal, los cuales fueron de 16 (Correa et al., 2012) y 24 h (Caro y Correa, 2006). El tiempo previo de incubación ruminal influyó sobre la degradación y posterior digestibilidad intestinal de la MS, así como en los aportes de proteína y AA que llegaron al intestino delgado.

Con relación a la degradabilidad ruminal de la MS de la LysP y MetP se pudo observar que la lisina estuvo protegida mientras que la metionina no (Cuadro 2). Sin embargo, cuando estas llegaron al ID, la lisina tuvo baja

digestibilidad intestinal de la MS (% de la MS), mientras que la metionina se digirió en una mayor cantidad. Estas diferencias presentadas radican en los componentes con que se protegen los AA, ya que la Lys estaba protegida con ácidos grasos y la Met por una cubierta de etilcelulosa.

Al evaluar diferentes productos de MetP y LysP se encontró que fueron mayores las degradaciones ruminales a las veinticuatro horas para la Met protegida con ácidos grasos hidrogenados o jabones cálcicos que contienen ácidos grasos C16 y C18, que para protecciones con etilcelulosa y polímeros sensibles a pH (Rossi et al., 2003). Para la LysP fueron mayores las degradaciones para los ácidos grasos hidrogenados, jabones cálcicos con ácidos grasos C16 y C18 y triglicéridos conteniendo jabones cálcicos con ácidos grasos saturados, que para las protecciones con triglicéridos. Sin embargo, cuando fueron evaluadas las digestibilidades intestinales para los diferentes productos se encontró que fue menor para la protección con etilcelulosa en la MetP y triglicéridos conteniendo jabones cálcicos con ácidos grasos saturados para LysP, que fueron específicamente las que tuvieron mayor protección ruminal. Esto confirma los resultados de este estudio, porque cuando fue mayor la protección del AA a nivel ruminal, también fue menor su disponibilidad a nivel intestinal.

Es importante no solamente tener en cuenta el tipo de protección, sino también el aminoácido que está siendo protegido y, a su vez, los ácidos grasos que están incluidos en el jabón cálcico, ya que las grasas hidrogenadas son pobremente digestibles en ID y la inclusión de ácidos grasos insaturados como el oleico puede mejorar su digestibilidad (Harvatine y Allen, 2006; Drackley et al., 2007).

En cuanto a la fracción proteica (Cuadro 3), las degradabilidades ruminales de la PC del kikuyo y del concentrado fueron superiores al 60%. Para el pasto kikuyo, esto pudo deberse a las altas fertilizaciones nitrogenadas que incrementan el nitrógeno no proteico (NNP) en este forraje y el tipo de proteínas que constituyen el alimento. Se ha reportado que el kikuyo contiene N soluble de hasta un 35,1% (Marais, 2001) y que la principal y más importante proteína dietaria encontrada en forrajes frescos es la ribose-1,5-bisfosfato carboxilasa o rubisco (McNabb et al., 1998), la cual representa el 50-60% del contenido total de proteína y es rápidamente degradada en el rumen. Otras proteínas, como las de membranas en los cloroplastos, resisten la degradación durante los primeros horarios de fermentación ruminal, pero completan su desaparición a las 48 h (Aufreere et al., 1994a).

Para el concentrado, la razón radica en la naturaleza de las proteínas de sus mayores ingredientes (maíz y torta de soya), las cuales son de tipo soluble, como albúminas y globulinas para la torta de soya, y de almacenamiento como prolaminas y glutelinas en el grano de maíz.

La torta de soya contiene en promedio un porcentaje de proteína cruda de 46% y su proteína, principalmente globulinas, que están compuestas de conglucinas y glicininas, altamente degradables en el rumen, con una desaparición ruminal de 2 a 24 h principalmente (Aufreere et al., 1994b; Sadeghi et al., 2006). Mientras que el grano de maíz contiene 8-10% de PC, encontrándose que las proteínas más predominantes son las prolaminas (zeinas) y glutelinas (zeanina) (Hamaker et al., 1995), con degradabilidades de la PC entre el 70-80% en las primeras 12 h de incubación ruminal y más del 80% para las 24 h post incubación (Herrera et al., 1990). Por lo tanto, la proporción relativa de cada fracción en los alimentos de estas proteínas mencionadas anteriormente pudo influir de gran manera en el total de proteína que fue degradable en el rumen para los alimentos evaluados, y afectar a su vez, el patrón de aminoácidos que llegaron al ID.

La degradación ruminal e intestinal de la PC del pasto kikuyo fue 61,8% y 57,6%, respectivamente; estos porcentajes están acordes con los valores reportados por Castañeda et al. (2008) y Caro y Correa (2006), para esta misma especie. De igual forma, en el trabajo de Caro y Correa (2006) se encontró para estas mismas variables valores de 60,9% para la PCDR y 22,52% para la PNDRDI, después de una incubación de 24 h, valores similares a los de este trabajo, debido a que la incubación ruminal fue muy similar en ambas determinaciones. Valores mucho más bajos en un trabajo *in vivo* fueron reportados por Correa et al. (2010).

En cuanto a los AA protegidos, la degradabilidad ruminal de la PC de la LysP (Cuadro 3) fue mucho menor que la de MetP. Sin embargo, cuando estas fuentes pasaron al ID, las digestibilidades intestinales de la PC (% PNDR)

fueron menores para la LysP (40,9%) que para MetP (59,2%). En este trabajo la fuente con mayor protección de la degradación ruminal presentó menor digestibilidad intestinal y por tanto, la menor digestibilidad aparente en el total del TGI. El tipo de protección y los ácidos contenidos en la fuente que protege el aminoácido fue lo que pudo haber incidido en las diferencias encontradas entre fuentes en las degradabilidades ruminales y digestibilidades intestinales.

Es importante resaltar, que al comparar los resultados obtenidos (Cuadro 3 con Cuadro 5), los valores de degradabilidad ruminal y digestibilidad intestinal de la lisina para LysP y de la metionina para MetP fueron similares a los valores de DR y DI de la PC para las fuentes de AA protegidos, lo que significa que no fue necesario determinar el contenido del AA dentro de la fuente, que es un análisis más costoso, sino que bastó simplemente con la determinación de su contenido de PC.

Los resultados de este trabajo concuerdan con los reportados por Lara et al. (2003), quienes evaluaron la metionina protegida en diferentes horarios de incubación ruminal *in situ*, encontrando que a las veinticuatro horas el 58,2% de la PC y el 44,3 mg/g del N se habían degradado en el rumen para este producto. Por otra parte, Berthiaume et al. (2000) evaluaron esta misma fuente de MetP y también encontraron una degradación ruminal de la MS alta, la cual fue de 44,16% a tan solo dieciséis horas de incubación ruminal.

Perfil y digestibilidad de AA en los alimentos evaluados

Los contenidos de PC y perfil de AA del pasto kikuyo encontrados en este experimento (Cuadros 1 y 4) concuerdan con lo publicado por Correa et al. (2008). Sin embargo, las concentraciones de PC y AA presentadas en este trabajo fueron más altas que para el forraje de cuarenta días, y más bajas que para uno de treinta, lo cual pudo deberse a que la PC del pasto kikuyo en este trabajo fue de 18,2%, valor más cercano al de treinta (17,8%) que al de cuarenta días de corte (14,4% de la PC). Además, la alta fertilización nitrogenada de las pasturas durante años, ha generado mayores concentraciones de nitrógeno en el suelo y, por lo tanto, mayor contenido de proteína en el forraje.

Comparando el perfil de AA esenciales (AAE) del pasto kikuyo y del alimento concentrado con los reportados para la proteína microbiana por Hvelplund (1986), los AAE con un menor porcentaje relativo a la P_{Microb} fueron la lisina (Lys), treonina (Thr), histidina (His) e isoleucina (Ile) para el forraje y la Lys para el alimento concentrado.

Los datos presentados en el Cuadro 4 muestran que el perfil de AA que ingresó al abomaso (perfil del residuo ruminal) fue diferente al del alimento ofrecido (pasto kikuyo y concentrado), y los AA como valina (Val), cistina (Cys), tirosina (Tyr), treonina (Thr), arginina (Arg), histidina (His) y fenilalanina (Phe) los que más sufrieron cambios en el kikuyo, con incrementos en su concentración superiores al 32,0%. Para el concentrado los AA que más variaron fueron asparagina (Asp), Ile, Thr, Phe, His, Tyr y Met con incrementos mayores al 53,4%.

Los dos AA que más variaron en el kikuyo y el concentrado fueron los de cadena ramificada (Val e Ile, respectivamente), ya que estos son desaminados y descarboxilados por los microorganismos ruminales para producir ácidos grasos volátiles de cadena ramificada (ácido isobutírico, isovalérico, valérico y 2-metilbutírico) necesarios para el crecimiento y síntesis de la proteína microbiana en el rumen (Ling et al., 2013).

Los incrementos en las concentraciones de los AA en el residuo ruminal pueden explicarse principalmente a que se contó con menos cantidad de MS en el residuo ruminal y, por tanto, las concentraciones aumentan en este residuo.

La degradación ruminal de los AA para el kikuyo varió entre 58,7 y 68%, en tanto que para el concentrado los valores fluctuaron entre 76,1 y 82,9%, lo que indica una mayor disponibilidad de estos nutrientes para la microflora ruminal en el suplemento que en el forraje (Cuadro 5). Por otra parte, se encontró que para las fuentes de AA protegidos la degradabilidad ruminal de LysP fue de 11,5% mientras que para MetP fue del 65,8%.

Los aminoácidos que mayor desaparición ruminal tuvieron (AADR como % del AA inicial incubado) fueron para el pasto kikuyo la Met y Lys, mientras que para el concentrado fueron la Val, Cys y Lys (Cuadro 5). Los AA más digestibles de la PNDR fueron en su orden Val, Ala, His y Met para el kikuyo e Ile y Asp para el alimento

Cuadro 4. Perfil de aminoácidos (% de la MS) en el alimento (Alim), en el residuo después de 27,4 h de incubación ruminal (RR) y en el residuo después de la digestión intestinal encontrado en las heces (RH) de las diferentes fuentes evaluadas de una dieta completa para vacas lecheras de alta producción (kikuyo + suplemento comercial). San Pedro de los Milagros, Antioquia, Colombia. 2014

Table 4. Amino acids profile (% of DM) of feeds (Alim), residue of ruminal incubation after 27,4 h (RR) and residue of feed evaluated found in feces after intestinal digestibility (RH) of different sources evaluated. San Pedro de los Milagros, Antioquia, Colombia. 2014.

Aminoácidos (AA)	Kikuyo			Concentrado			LysP			MetP		
	Alim ¹	RR	RH	Alim	RR	RH	Alim	RR	RH	Alim	RR	RH
Metionina (Met)	0,31	0,32	0,13	0,58	0,89	0,89				45,3	39,0	43,4
Lisina (Lys)	0,95	0,98	0,46	1,09	1,54	1,54	37,7	35,8	30,1			
Leucina (Leu)	1,34	1,58	1,09	1,27	1,92	1,92						
Isoleucina (Ile)	0,81	0,96	0,66	0,88	1,4	1,4						
Valina (Val)	1,10	1,56	1,16	0,91	1,02	1,02						
Treonina (Thr)	0,32	0,43	0,33	0,65	1,01	1,01						
Fenilalanina (Phe)	0,97	1,28	1,34	0,76	1,17	1,17						
Histidina (His)	0,31	0,41	0,3	0,39	0,6	0,6						
Alanina (Ala)	1,36	1,59	1,01	0,82	1,25	1,25						
Arginina (Arg)	0,85	1,13	1,25	0,92	1,32	1,32						
Asparagina (Asp)	2,24	2,85	2,28	1,84	2,88	2,88						
Glutamina (Glu)	1,95	2,45	1,96	3,55	5,16	5,16						
Glicina (Gly)	0,76	0,88	0,58	0,91	1,34	1,34						
Serina (Ser)	0,86	1,09	0,81	0,6	0,91	0,91						
Cistina (Cys)	0,17	0,23	0,17	0,57	0,8	0,8						
Tirosina (Tyr)	0,23	0,31	0,23	0,39	0,6	0,6						
Sumatoria	14,53	18,1	13,8	16,1	23,8	23,8	37,7	35,8	30,1	45,3	39,0	43,4

¹ Alim: perfil de AA en el alimento, RR: perfil de AA después de 27,4 h de incubación ruminal, RH: perfil de aminoácidos en el residuo del alimento encontrado en las heces, LysP: lisina protegida ruminalmente, MetP: metionina protegida ruminalmente / Alim: Amino acids profile in feed, RR: Amino acid profile after of ruminal incubation during 27,4 h, RH: Amino acid profile in residue of feed found in feces, LysP: Rumen-protected lysina, MetP: Rumen-protected methionine.

concentrado. Estas diferencias en la degradación y digestibilidad de los AA individuales en el kikuyo y concentrado, pueden depender principalmente de la degradación de la proteína en la cuales ellos están incluidos, es decir, a las diferencias en el contenido de las diferentes proteínas en el alimento, como albúminas, globulinas (altamente degradables en rumen), prolamina y glutaminas (con mayor resistencia a la degradación ruminal). Adicionalmente, estos valores también pudieron estar influenciados por la solubilidad y estructura de las proteínas que contienen los aminoácidos y su aminograma (Taghizadeh et al., 2005). Por lo tanto, parece que la composición de AA en las proteínas que escaparon de la degradación ruminal fue mayor y su susceptibilidad a la degradación fue menor en alimentos compuestos de tejidos vegetales (kikuyo) que en alimentos concentrados, ya que muchas fuentes de proteína comúnmente usadas para la producción animal son expuestas a calor, presión o alcalosis, las que causan que ciertos aminoácidos reaccionen con otros compuestos presentes en el alimento, resultando en compuestos no disponibles nutricionalmente, y disminuyendo la biodisponibilidad de los AA en el ID (Hurrell y Carpenter, 1981).

Los AA más degradables y digestibles en todo el tracto gastrointestinal (considerando el AA que se degrada en el rumen y el que se absorbe intestinalmente que viene desde la PNDR) fueron Lys y Met para el pasto kikuyo (92,7 y 91,8% como % del AAI, respectivamente). Al parecer estos dos AA son requeridos en mayor cantidad, tanto por los microorganismos ruminales como por el animal (Kajikawa et al., 2002; Socha et al., 2005). Por otro

Cuadro 5. Degradabilidad ruminal y digestibilidad intestinal de los aminoácidos (AA) en los alimentos evaluados de una dieta completa para vacas lecheras de alta producción (kikuyu + suplemento comercial). San Pedro de los Milagros, Antioquia, Colombia. 2014.
Table 5. Ruminant degradability and intestinal digestibility of amino acids (AA) in feeds evaluated of complete diet for high-producing dairy cattle (kikuyu + commercial concentrate). San Pedro de los Milagros, Antioquia, Colombia. 2014.

AA	% AADR			% AANDR			% AADI			% AANDRDI			% AA Ind			% DTAA		
	kiku- yo	Con- cent	MetP	kiku- yo	Con- cent	MetP	kiku- yo	Con- cent	MetP	kiku- yo	Con- cent	MetP	kiku- yo	Con- cent	MetP	kiku- yo	Con- cent	MetP
Met	68,0	76,7	65,8	32,0	23,3	34,2	77,4	57,8	58,7	24,8	13,5	20,1	7,20	9,90	14,1	92,7	90,1	85,9
Lys	68,0	78,4	11,5	32,0	21,6	88,5	74,3	54,5	42,1	23,8	11,8	37,2	8,20	9,90	51,3	91,8	90,1	48,8
Leu	63,3	76,9		36,7	23,0		62,3	57,3		22,8	13,2		13,8	9,90		86,2	90,1	
Ile	63,4	75,8		36,6	24,2		62,3	59,3		22,8	14,4		13,8	9,90		86,2	90,1	
Val	56,0	82,9		43,8	17,1		59,3	42,2		26,1	7,30		17,9	9,90		82,1	90,1	
Thr	58,8	76,4		41,2	23,6		57,8	58,3		23,8	13,8		17,4	9,90		82,6	90,1	
Phe	59,3	76,6		40,7	23,4		42,6	57,8		17,4	13,5		23,4	9,90		76,7	90,1	
His	58,7	76,4		41,3	23,6		60,7	58,2		25,1	13,7		16,2	9,90		83,8	90,1	
Arg	58,8	78,1		41,2	21,9		39,6	55,1		16,3	12,1		24,9	9,90		75,1	90,1	
Ala	63,7	76,6		36,3	23,4		71,4	57,8		25,9	13,5		10,4	9,90		89,6	90,1	
Asp	60,6	76,1		39,4	23,9		56,2	58,8		22,1	14,1		17,2	9,90		82,8	90,1	
Glu	61,1	77,8		38,9	22,2		56,2	55,7		21,9	12,4		17,0	9,90		83,0	90,1	
Gly	64,3	77,5		35,7	22,5		42,3	56,2		15,1	12,6		20,6	9,90		79,4	90,1	
Ser	60,6	76,6		39,4	23,4		59,3	57,9		23,4	13,5		16,0	9,90		84,0	90,1	
Cys	58,6	78,6		41,4	21,4		57,9	53,9		24,0	11,5		17,4	9,90		82,6	90,1	
Tyr	58,8	76,3		41,2	23,7		59,0	58,4		24,3	13,8		16,9	9,90		83,1	90,1	
Σ AA	61,5	77,4	11,5	38,5	22,6	88,5	58,3	56,3	42,1	22,4	12,7	37,2	20,1	9,90	51,3	83,9	90,1	48,8
EEM	0,71	0,51	0,35	1,41	0,51	0,35	1,41	0,31	0,97	0,75	2,34	0,48	0,36	0,15	0,83	0,21	0,14	0,16

AADR: porcentaje de AA degradables en el rumen. AANDR: porcentaje de AA no degradables en el rumen. AADI: porcentaje de digestibilidad del AANDR. AANDRDI: porcentaje del AA no degradables en rumen digeribles intestinalmente. AA Ind: porcentaje de AA indigestibles. DTAA: digestibilidad total aparente de los AA. AAI: aminoácido inicial incubado. Met: metionina. Lis: lisina. Leu: leucina. Ile: isoleucina. Val: valina. Thr: treonina. Phe: fenilalanina. His: histidina. Arg: arginina. Ala: alanina. Asp: aspartato. Glu: glutamina. Gly: glicina. Ser: serina. Cys: cistina. Tyr: tirosina. EEM: error estándar de la media. LysP: lisina protegida ruminalmente. MetP: metionina protegida ruminalmente / AADR: percentage of rumen degradability of AA. AANDR: percentage of undegradable rumen of AA. AADI: percentage of digestibility of AANDR. AANDRDI: percentage of undegradable intestinally digestible rumen of AA. AA Ind: percentage of indigestible AA. DTAA: total tract apparent digestibility of AA. AAI: initial incubated Amino Acid. Met: methionine. Lis: lysine. Leu: leucine. Ile: isoleucine. Val: valine. Thr: treonine. Phe: Phenylalanine. His: histidine. Arg: arginine. Ala: alanine. Asp: aspartate. Glu: glutamine. Gly: glycine. Ser: serine. Cys: cysteine. Tyr: tyrosine. EEM: Standar error of the mean. LysP: Rumen-protected lysine. MetP: Rumen-protected methionine.

lado, AA como la Gly, Arg y Phe en el pasto kikuyo fueron los que llegaron y se absorbieron en menor porcentaje en el ID, siendo 15,1, 16,3 y 17,4% AANDR (% AAI), respectivamente. Para el suplemento comercial fueron Val (7,30), Cys (11,5) y Lys (11,8%). El caso de la Val llama la atención debido a que, aunque fue el AA con menor aporte y absorción en el ID desde el concentrado, tuvo la menor degradabilidad ruminal y mayor aporte al ID desde el forraje, por lo que, este podría compensar las deficiencias que pudieran presentarse de este AA en un sistema basado en kikuyo y concentrado.

La lisina tuvo una mejor protección que la metionina debido a que solo el 11,5% del aminoácido se degradó en el rumen, y por tanto, una mayor cantidad pasó al ID, mientras que la metionina protegida se degradó a nivel ruminal en un 65,8% y solo pasó al abomaso e intestino un 34,2% (Cuadro 5). Sin embargo, la DI del AA como porcentaje del AANDR fue mucho más bajo para la LysP que para la MetP, lo que muestra claramente que el método de protección también impidió su digestión a nivel intestinal.

Los porcentajes de digestibilidad intestinal para ambos AA protegidos (como % PNDR) fueron diferentes, siendo la MetP superior en un 16,6%. Sin embargo, la LysP al tener un mayor porcentaje del AA que no es degradado en el rumen obtuvo un mayor aporte de PNDRDI (% AAI). De esto, podemos definir que la fuente mejor protegida fue la lisina, acorde con la etiqueta del producto, y que el método de protección del AA a nivel ruminal va en detrimento de su digestibilidad intestinal, generando finalmente mayores pérdidas en las heces de este producto por el animal, debido a su baja disponibilidad y digestibilidad en el rumen, abomaso e ID (ver DTAA, % AAI para la LysP y MetP). Más desarrollos para proteger la metionina son necesarios, ya que la cantidad que pasa al abomaso e intestino es muy baja, limitándose así el aporte de metionina desde esta fuente protegida. Es necesario resaltar también, que a pesar de ser la Met una fuente con menor protección que la Lys, su digestibilidad en el TGI fue 85,9 versus 48,8 respectivamente, por lo que, aunque llega menor cantidad al ID, también una parte de esta metionina es usada en el rumen y, por tanto, hay un mayor aprovechamiento de este producto por parte del animal, al ser esta fuente utilizada para la producción de proteína microbiana (Duque et al., 2015).

Las fuentes protegidas deben ser evaluadas tanto en su degradabilidad ruminal como digestibilidad intestinal, esto para poder lograr determinaciones más precisas en la formulación e inclusión de estos productos en la dieta para vacas lecheras, debido a que no siempre la alta protección va acompañada de una alta disponibilidad en el intestino delgado y viceversa.

Agradecimientos

Universidad de Antioquia, sostenibilidad al grupo Biogénesis; Colciencias por la beca doctoral de uno de los autores de este artículo. A Ajinomoto y Evonik por las fuentes de aminoácidos protegidos de lisina y metionina y su asesoramiento.

Literatura citada

- AOAC (Association of Official Analytical Chemist). 2002. Official methods of analysis. 17th ed. AOAC, Arlington, VA, USA.
- Aufrere, J., D. Boulberhane, D. Graviou, J.P. Andrieu, and C. Demarquilly. 1994a. Characterisation of *in situ* degradation of Lucerne proteins according to forage type (green forage, hay and silage) using gel electrophoresis. Anim. Feed Sci. Technol. 50:75-85.
- Aufrere, J., D. Graviou, and B. Michalet-Doreau. 1994b. Degradation in the rumen of proteins of 2 legumes: soybean meal and field pea. Reprod. Nutr. Dev. 34:483-490.

- Bach, A., G. Huntington, and M. Stern. 2000. Response of nitrogen metabolism in preparturient dairy cows to methionine supplementation. *J. Anim. Sci.* 78:742-749.
- Bartocci, S., A. Amici, M. Verna, S. Terramocchia, and F. Martillotti. 1997. Solid and fluid passage rate in buffalo, cattle and sheep fed diets with different forage to concentrate ratios. *Liv. Prod. Sci.* 52:201-208.
- Berthiaume, R., H. Lapierre, M. Stevenson, N. Cote, and B. McBride. 2000. Comparison of the *in situ* and *in vivo* intestinal disappearance of ruminally protected methionine. *J. Dairy Sci.* 83:2049-2056.
- Benefield, B., R. Patton, M. Stevenson, and T. Overton. 2009. Evaluation of rumen-protected methionine sources and period length on performance of lactating dairy cows within Latin squares. *J. Dairy Sci.* 92:4448-4455.
- Cabrita, A., R. Dewhurst, D. Melo, J. Moorby, and A. Fonseca. 2011. Effects of dietary protein concentration and balance of absorbable amino acids on productive responses of dairy cows fed corn silage-based diets. *J. Dairy Sci.* 94:4647-4656.
- Campos, W., E. Benedetti, N. Rodríguez, E. Saliba, e A. Borges. 2007. Cinética ruminal de vacas leiteiras a pasto consumindo diferentes gramíneas tropicais. *Arch. Zootecn.* 56:829-837.
- Caro, F., y H.J. Correa. 2006. Digestibilidad posruminal aparente de la materia seca, la proteína cruda y cuatro macrominerales en el pasto kikuyo (*Pennisetum clandestinum*) cosechado a dos edades de rebrote. *Liv. Res. Rural Dev.* 18(143). <http://www.lrrd.org/lrrd18/10/caro18143.htm> (consultado 10 feb. 2015).
- Castañeda, M., M. Duque, R.D. Galvis, y H.J. Correa. 2008. Efecto de la fertilización nitrogenada y de la edad de corte sobre la digestibilidad intestinal *In vitro* de la proteína del pasto kikuyo (*Pennisetum clandestinum Hochst*). *Rev. Fac. Agron. Medellín* 61:4646-4653.
- Chiou, P.W., K. Kuo, J. Hsu, and B. Yu. 1995. Studies on the protein degradabilities of feedstuffs in Taiwan. *Anim. Feed Sci. Technol.* 55:215-226.
- Correa, H.J., M.L. Pabón, y J.E. Carulla. 2008. Valor nutricional del pasto kikuyo (*Pennisetum clandestinum* Hoechst Ex Chiov.) para la producción de leche en Colombia (Una revisión): I - Composición química y digestibilidad ruminal y posruminal. *Liv. Res. Rural Dev.* 20(4). <http://www.lrrd.org/lrrd20/4/corra20059.htm> (consultado 10 feb. 2015).
- Correa, H.J., Y. Rodríguez, y L. Jaimes. 2010. Incubación posruminal de bolsas móviles de nylon mediante una sonda de incubación abomasal. *Livest. Res. Rural Dev.* 22(157). <http://www.lrrd.org/lrrd22/8/corr22157.htm> (consultado 10 feb. 2015).
- Correa, H.J., Y. Rodríguez, M. Pabón, y J. E. Carulla. 2012. Efecto de la oferta de pasto kikuyo (*Pennisetum clandestinum*) sobre la producción, la calidad de la leche y el balance de nitrógeno en vacas Holstein. *Liv. Res. Rural Dev.* 24(204). <http://www.lrrd.org/lrrd24/11/corr24204.htm> (consultado 15 ene. 2015).
- Davidson, S., B. Hopkins, J. Odle, C. Brownie, V. Fellner, and L. Whitlow. 2008. Supplementing limited methionine diets with rumen-protected methionine, betaine, and choline in early lactation Holstein cows. *J. Dairy Sci.* 91:1552-1559.
- Drackley, J.K., T.R. Overton, G. Ortiz-Gonzalez, A.D. Beaulieu, D.M. Barbano, J.M. Lynch, and E.G. Perkins. 2007. Responses to increasing amounts of high-oleic sunflower fatty acids infused into the abomasum of lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 90:5165-5175.
- Duque, M., R.R Noguera, y M. Olivera. 2015. Efecto de la suplementación con metionina y lisina protegidas sobre el flujo de aminoácidos, producción de leche y concentración de proteínas lácteas. Tesis Dr. Sci. Anim., Medellín, Antioquia, COL.
- García, J., J.J. Zuluaga, y J. Suescún. 2009. Evaluación de la técnica de bolsa móvil de nylon para determinar la digestibilidad de proteína cruda en cerdos. *Rev. Lasallista Investig.* 6:24-30.
- Gargallo, S., S. Calsamiglia, and A. Ferret. 2006. Technical note: A modified three-step *in vitro* procedure to determine intestinal digestion of proteins. *J. Anim. Sci.* 84:2163-2167.

- Galyean M.L. 1997. Laboratory procedures in animal nutrition research. West Texas A&M University, Division of Agriculture and Texas A&M Research and Extension Center. http://apps.depts.ttu.edu/afs/home/mgalyean/lab_man.pdf (consultado 10 ago. 2015).
- Hamaker, B.R., A.A. Mohamed, J.E. Habben, C.P. Huang, and B.A. Larkins. 1995. Efficient procedure for extracting maize and sorghum kernel proteins reveals higher prolamin contents than the conventional method. *Cereal Chem. J.* 72:583-588.
- Harvatine, K.J., and M.S. Allen. 2006. Effects of fatty acid supplements on ruminal and total tract nutrient digestion in lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 89:1092-1103.
- Herrera, R.E., J.T. Huber, and M.H. Poore. 1990. Dry matter, crude protein, and starch degradability of five cereal grains. *J. Dairy Sci.* 73:2386-2393.
- Holden, L.A., L.D. Muller, and S.L. Fales. 1994. Estimation of intake in grazing grass pasture high producing Holstein cows. *J. Dairy Sci.* 77:2332-2340.
- Hurrell, R.F., and K.J. Carpenter. 1981. The estimation of available lysine in foodstuffs after Maillard reactions. *Progr. Food Nutr. Sci.* 5:159-176.
- Hvelplund, T. 1986. The influence of diet on nitrogen and amino acid content of mixed rumen bacteria. *Acta Agric. Scand.* 36:325-331.
- Hvelplund, T., M.R. Weisbjerg, and L.S. Andersen. 1992. Estimation of the true digestibility of rumen undergraded dietary protein in the small intestine of ruminants by the mobile bag technique. *Acta Agric. Scand. Anim. Sci.* 42:34-39.
- IDEAM (Instituto de Hidrología, Meteorología y Estudios Ambientales). 1997. Zonificación ecológica de Colombia usando las zonas de vida de Holdridge. C.D. IDEAM, Bogotá, COL.
- Jajic, I., S. Krstovic, D. Glamocic, S. Jaksic, and B. Abramovic. 2013. Validation of an HPLC method for the determination of amino acids in feed. *J. Serb. Chem. Soc.* 78(6):839-850.
- Kajikawa, H., M. Mitsumori, and S. Ohmomo. 2002. Stimulatory and inhibitory effects of protein amino acids on growth rate and efficiency of mixed ruminal bacteria. *J. Dairy Sci.* 85:2015-2022.
- Kendall, C., C. Leonardi, P.C. Hoffman, and D.K. Combs. 2009. Intake and milk production of cows fed diets that differed in dietary neutral detergent fiber and neutral detergent fiber digestibility. *J. Dairy Sci.* 92:313-323 doi:10.3168/jds.2008-1482.
- Kudrna, V., J. Illek, M. Marounek, and A. Nguyen. 2009. Feeding ruminally protected methionine to pre- and postpartum dairy cows: effect on milk performance, milk composition and blood parameters. *Czech J. Anim. Sci.* 54:395-402.
- Lara, A., G. Mendoza, y J. Bárcena. 2003. Degradabilidad ruminal *in situ e in vitro* de la metionina protegida. *Rev. Tec. Pecu. Mex.* 41:91-103.
- Ling, H., Y. Chen, X. Li, and Y. Xia. 2013. Effects of Branched-chain amino acids on *in vitro* ruminal fermentation of wheat straw. *Asian Australas. J. Anim. Sci.* 26:523-52.
- Marais, J.P. 2001. Factors affecting the nutritive value of kikuyu grass (*Pennisetum clandestinum*) - a review. *Trop. Grassl.* 35:65-84.
- McNabb, W.C., J.S. Peters, L.Y. Foo, G.C. Waghorn, and F.S. Jackson. 1998. Effect of condensed tannins prepared from several forage on the *in vitro* precipitation of ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase (Rubisco) protein and its digestion by trypsin (EC 2.4.21.4) and chymotrypsin (EC 2.4.21.1). *J. Sci. Food Agric.* 77:201-212.
- Misciattelli, L., V. Kristensen, M. Vestergaard, M. Weisbjerg, K. Sejrsen, and T. Hvelplund. 2003. Milk production, nutrient utilization, and endocrine responses to increased postruminal lysine and methionine supply in dairy cows. *J. Dairy Sci.* 86:275-286.

- NRC (Nutrient Requirements of Dairy Cattle). 2001. Nutrient requirements of dairy cattle. 7th revised ed. National Academy Press, WA, USA.
- Pereira, J., M. Ribeiro, R. Mendonça, e B. Pacheco. 2005. Avaliação de modelos matemáticos para o estudo da cinética de passagem de partículas e de fluidos por bovinos em pastagem recebendo suplementos contendo diferentes níveis de proteína não-degradável no rúmen. *Rev. Bras. Zootec.* 34:2475-2485.
- Piepenbrink, M., A. Marr, M. Waldron, W. Butler, T. Overton, M. Vázquez-Anón, and M. Holt. 2004. Feeding 2-hydroxy-4-(methylthio)-butanoic acid to periparturient dairy cows improves milk production but not hepatic metabolism. *J. Dairy Sci.* 87:1071-1084.
- Ramanzin, M., G. Bittante, and L. Bailoni. 1991. Evaluation of different chromium-mordanted wheat straws for passage rate studies. *J. Dairy Sci.* 74:2989-2996.
- Robinson, P. 2009. SHIELD dairy ration evaluator. Department of Animal Science, UC Davis, Davis, CA, USA.
- Robinson, P. 1996. Rumen protected amino acids for dairy cattle: What is the future? *Anim. Feed Sci. Technol.* 19:81-86.
- Rossi, F., M. Moschini, F. Masoero, G. Cavanna, and G. Piva. 2003. Rumen degradation and intestinal digestibility of rumen protected amino acids: comparison between *in situ* and *in vitro* data. *Anim. Feed Sci. Technol.* 108:223-229.
- Rulquin, H., and L. Delaby. 1997. Effects of the energy balance of dairy cows on lactational responses to rumen-protected methionine. *J. Dairy Sci.* 80:2513-2522.
- Sadeghi, A., A. Nikkhah, P. Shawrang, and M. Shahrehabak. 2006. Protein degradation kinetics of untreated and treated soybean meal using SDS-PAGE. *Anim. Feed Sci. Technol.* 126:121-133.
- SAS. 2001. Institute Inc. Version. 9.1.3. SAS, Cary, NC, USA.
- Schwab, C., C. Bozak, N. Whitehouse, and M. Messbah. 1992. Amino acid limitation and flow to duodenum at four stages of lactation: sequences of lysine and methionine limitation. *J. Dairy Sci.* 75:3486-3502.
- Socha, M., D. Putnam, B. Garthwaite, N. Whitehouse, N. Kierstead, C. Schwab, G. Ducharme, and J. Robert. 2005. Improving intestinal amino acid supply of pre- and postpartum dairy cows with rumen-protected methionine and lysine. *J. Dairy Sci.* 88:1113-1126.
- Swanepoel, N., P. Robinson, and L. Erasmus. 2010. Amino acid needs of lactating dairy cows: impact of feeding lysine in a ruminally protected form on productivity of lactating dairy cows. *Anim. Feed Sci. Technol.* 157:79-94.
- Taghizadeh, A., M. Danesh, R. Valizadeh, F.E. Shahroodi, and K. Stanford. 2005. Digestion of feed amino acids in the rumen and intestine of steers measured using a mobile nylon bag technique. *J. Dairy Sci.* 88:1807-1814.
- Udén, P., P.E. Colucci, and P.J. Van Soest. 1980. Investigation of chromium, cerium and cobalt as markers in digesta. Rate of passage studies. *J. Sci. Food Agric.* 31:625-632.
- Van Straalen, W.M., J.J. Odiga, and W. Mostert. 1997. Digestion of feed amino acids in the rumen and small intestine of dairy cows measured with nylon-bag techniques. *British J. Nutr.* 77:83-97.