



Casa abierta al tiempo

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA

DIVISIÓN EN CIENCIAS BIOLÓGICAS Y DE LA SALUD

UNIDAD IZTAPALAPA

T E S I S

**“EFECTO DE PIGMENTOS CAROTENOIDES Y
PECTINA EN LA CALIDAD DE LA GRASA
DE BOVINOS”**

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE
DOCTORA EN BIOTECNOLOGÍA

PRESENTA
ROSY GABRIELA CRUZ MONTERROSA

México, D. F., 16 de Julio del 2012

El posgrado en Biotecnología de la Universidad Autónoma Metropolitana está incluido en el Padrón Nacional de Posgrado (PNP) del CONACyT, con categoría de alto nivel, con el convenio 471-0/Doctorado en Biotecnología.

Este trabajo de investigación fue realizado con una beca de grado otorgado por el Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología.

El trabajo experimental se llevó a cabo en el Colegio de Postgraduados Campus Montecillo y en la Unidad Iztapalapa de la Universidad Autónoma Metropolitana.

El jurado designado por la
División de Ciencias Biológicas y de la Salud de la Unidad Iztapalapa aprobó
la tesis que presentó:

Rosy Gabriela Cruz Monterrosa

El día 16 de Julio del 2012

Dra. Isabel Guerrero Legarreta
(Universidad Autónoma Metropolitana, Unidad Iztapalapa) _____
Cotutora

Dr. Efrén Ramírez Bribiesca
(Colegio de Postgraduados, Campus Montecillo) _____
Cotutor

JURADO

Dr. Omar Hernández Mendo
(Colegio de Postgraduados, Campus Montecillo) _____
Asesor

Dr. Miguel Mellado Bosque
(Universidad Autónoma Agraria "Antonio Narro", Saltillo Coahuila) _____

Dra. Minerva Muñoz Gutiérrez
(Universidad Autónoma Metropolitana, Unidad Iztapalapa) _____

Dr. David Hernández Sánchez
(Colegio de Postgraduados, Campus Montecillo) _____

AGRADECIMIENTOS

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) por el apoyo económico brindado, sin el cual no hubiese sido posible obtener el grado de doctorado.

A la Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Iztapalapa por haberme dado la oportunidad de realizar mis estudios de doctorado en sus instalaciones, es un gran privilegio pertenecer a esta institución.

Al laboratorio S130 "Bioquímica de Macromoléculas" por brindarme el espacio y los instrumentos para obtener resultados en mi tesis doctoral.

A la **Dra. Isabel Guerrero Legarreta** por su apoyo en todo momento, su dedicación y su gran paciencia al guiarme en todo el desarrollo de la tesis. Doctora, es un honor y un gran privilegio trabajar con usted.

Al **Dr. Efrén Ramírez Bribiesca** por todo el apoyo incondicional que me ha brindado desde la licenciatura, la maestría y ahora el doctorado. Gracias por guiarme en el desarrollo de mi vida profesional.

Al **Dr. Omar Hernández Mendo** por su tiempo, apoyo y dedicación en el desarrollo de la tesis. Gracias por las palabras de ánimos durante los seminarios, fueron de mucha ayuda.

Al **Dr. Miguel Mellado Bosque** por sus sugerencias acertadas, su tiempo al colaborar en la revisión de esta tesis y es un honor que este presente en la conclusión de este proyecto.

A la **Dra. Minerva Muñoz Gutiérrez** por su tiempo y apoyo en colaborar en la revisión de esta tesis y por su asistencia durante la conclusión de esta misma. Agradezco el apoyo en mi examen predoctoral.

Al **Dr. David Hernández Sánchez** por el tiempo que dedico en la revisión de la tesis y más aún por estar en la colusión de este proyecto.

Al Colegio de Postgraduados Campus Montecillo, que me brindo sus instalaciones para realizar mi fase experimental de campo. A la Dra., Magda Crosby Galván, al Sr. Agustín (Jefe de laboratorio de microbiología) y el Sr. Anastasio (Técnico de laboratorio de nutrición) por darme el apoyo en la realización de los análisis de las muestras y todos aquellos que contribuyeron hacer más ameno el trabajo en el laboratorio...gracias.

A todas las personas que intervinieron de algún modo en esta realización de investigación....

MIL GRACIAS

DEDICATORIA

Gracias, es una palabra tan pequeña pero con un gran significado...y que, en estos tiempos, no se pronuncia tan a menudo como se debería. Gracias primero a Dios y a mi Virgen de Guadalupe por darme esa fuerza y paciencia para seguir cumpliendo mis objetivos de vida. Agradezco a Dios por darme la oportunidad de tener una familia con quien compartir los logros obtenidos en esta etapa de mi vida.

A mis padres Mario Cruz y Mary Monterrosa, que no solo estuvieron de espectadores en esta tesis, si no que estuvieron realizándola conmigo. Gracias por compartir esfuerzos en la fase experimental de campo, que se desvelaron junto conmigo preparando tratamientos y muestras, y a pesar del cansancio siempre formamos un excelente equipo de trabajo, por lo cual los tomo como parte de esta gran aventura. A ti mamá que dejaste sembrada en mí, la semilla de la superación, mediante tu amor y cariño, porque no hay forma de agradecerte todo lo que me diste... tus consejos, tu confianza, pero sobre todo tu ejemplo. Gracias mamá. Gracias por tu ejemplo silencioso, por enseñarme que en la vida lo único que cuenta es seguir adelante y seguir con valentía. Por todo tu cariño, comprensión y sobre todo tu alegría. Por ser un gran amigo y apoyarme siempre, sin importar cuan absurdo fuera y sobre todo por ser mi papá. Te quiero mucho.

A mi Hermana Janet que con tu entusiasmo y esa alegría que te caracteriza, haces que cada vez que te llame (casi siempre es todo los días y a cada rato jeje) me alegres el día con alguna anécdota que te pase. Simplemente a ti y a Rubén les doy las gracias por tomarme en cuenta para todo evento dentro de su familia y mucho más, mil gracias por darme la dicha de ser tía de dos hermosas princesas.

A mi peque Lilia, aunque estés tan lejos, en otro país, tu estas tan pero tan cerca en todo lo que hago. Sabes, hay muchas cosas que admiro y aprendo de ti, ese amor que tienes por toda la familia y esa unión que mantienes con nosotros, y sobre todo por lo responsable, la valentía y la alegría con que tomas la vida. A tu esposo Román estoy agradecida por la hospitalidad que me da en su casa cada vez que llego, y por supuesto por el hermoso hijo que ambos tienen. . Hermanas: Lilia y Janet aparte de ser mis hermanas son mis amigas, las amo.

A mis angelitos: Michelle, Ethan y Dennise, que ustedes me han enseñado a ponerse contento sin motivo, a estar siempre ocupado con algo y a exigir con todas sus fuerzas aquello que desean. Lejos o cerca siempre estaré con ustedes, porque ustedes le dieron un gran sentido a mi vida. Te amo mi güerita, te amo mi colochita, te amo mi colochito Ethan. Son el amor de mi vida.

A mis tías Nery y Lina porque siempre están al pendiente de mi desarrollo profesional, porque son un ejemplo a seguir y les agradezco el amor y los consejos que nos brinda a mi y a mis hermanas, no se imaginan el gran amor que les tengo. A mis primos que algún día nos reuniremos todos y por supuesto con los sobrinos. Adonis y Paye siempre recuerdo sus

travesuras y sus sonrisas, los amo. A mis tíos Luis, Guicho, Nufo y mis tías Amalia y Toñita gracias porque sé que desde lejos siempre me apoyan.

A mi tía Lilia que es mi ángel de la guardia, donde quiera que estés siempre estas dentro de mi corazón. A mi mamá Gloria porque siempre esta pendiente de mi desarrollo profesional y a toda la familia Monterrosa gracias.

A mi amiga linda Chabelita porque más que mi amiga siempre te he considerado una hermana, te quiero mucho y te extraño. Gracias por toooooo el apoyo incondicional.

A la banda rumen jejeje, mí querida amiga Mónica porque siempre nos apoyamos cuando más nos necesitamos, sabes que te quiero un montón y Tato es como mi sobrino. Mi amigo Ray, alias mi chiquillo, uffff inexplicable toda la ayuda que he recibido de ti, eres parte de esta tesis, sabes que tú y tu familia los estimo y siempre los estimaré. A mi amigo Daniel, alias mi amigochito, mi cómplice en muchas cosas y espero que esta amistad nunca termine, sabes que también te estimo mucho. A toda la banda rumen, que también aquí entra Chabelita les agradezco todos las risas, los enojos, las noches de bailes, de canto, de cumpleaños, los viajes raros y a veces tediosos y muy largos pero divertidos, etc., etc., y todo lo que aun nos falta por compartir...GRACIAS, son una parte importante en mi vida.

A los amigos que desde lejos me están enviando ánimos para seguir adelante: Rolando, Martín, Kenia, Reyes, Vicente Zamora y a todos aquellos que han estado pendiente de mi formación profesional. A Jerónimo por esta amistad tan bonita y además de mucho apoyo.

A mi segundo hogar, el laboratorio S130, donde pase momentos inolvidables, con la presencia de Raquel, Elvia, Miriam que con su experiencia podían contestar mis dudas, las estimo mucho y esta amistad espero conservarla por siempre. A Violeta porque siempre había una palabra de animo cuando llegaban momentos en que yo desesperaba (principalmente cuando la luz se iba y yo trabajando con el HPLC), gracias por tus consejos. Ary gracias por los ánimos y la amistad brindada. Jarú gracias por toda esta amistad, apoyo y sobre todo por la simpatía que te caracteriza, la cual lograste sacar muchas sonrisas. A Juanito por esa amistad y esa nobleza que te caracteriza, fue un placer convivir contigo. A Martín, Mary y Vicente gracias por el apoyo y la amistad. A las chicas que a su llegada al laboratorio hicieron mas ameno el trabajo ahí, las quiero mucho mucho Yobis, Bere y Juanis son las chispa del laboratorio. A Isaac por las porras que siempre me das para continuar con la titulación, gracias por la amistad. A mi compañera del taller de nutrición por los ánimos que me diste y lo positivo que es platicar contigo.

A ti que eres la persona más especial de mi vida, por darme ese amor incondicional, respeto y confianza, simplemente contigo aprendí a crecer y a creer que todo es posible e imposible, porque eres la única persona que siempre me hace sentir libre, dándole alas a mi mente y a mis palabras, dándole gracias a la vida por darnos la oportunidad de conocernos, solamente me queda decirte que para mí eres mas que un ángel, eoo mil y un veces eoo.

INDICE GENERAL

RESUMEN.....	vii
SUMMARY.....	X
1. INTRODUCCIÓN.....	1
2. ANTECEDENTES.....	2
2.1. Situación de la ganadería bovina en México.....	2
2.1.1. Unidades de producción bovina en las regiones ecológicas del país.....	2
2.1.2. Inventario nacional.....	3
2.1.3 Consumo de la carne de bovino.....	4
2.1.4. Impacto económico del problema de grasa amarilla en la canal.....	4
2.2. Importancia de los forrajes en la alimentación de bovinos de carne.....	8
2.3. Principales pigmentos en los forrajes.....	10
2.3.1. Carotenoides.....	10
2.3.1.1. Fuentes y estructura.....	10
2.3.1.2. Función.....	14
2.3.1.3. β -caroteno.....	15
2.3.2. Clorofilas.....	19
2.3.2.1. Estructuras.....	19
2.3.2.2. Espectros de absorción.....	21
2.4. Digestión, absorción y metabolismo de β -caroteno en los rumiantes.....	22
2.4.1. Digestión ruminal.....	23
2.4.2. Movilización y absorción postruminal.....	24
2.4.3. Factores limitantes de la absorción de los carotenoides.....	25
2.4.4. Almacenamiento y distribución en los tejidos.....	27
2.4.5. Eliminación.....	28
2.4.6. Metabolismo de la Vitamina A.....	28
2.4.7. Conversión de β -caroteno a vitamina A.....	29
2.4.8. Funciones de β -caroteno en bovinos.....	29
2.4.9. Efectos secundarios de la administración de β -caroteno.....	30
2.5. Colesterol.....	30
2.5.1. Estructura.....	30
2.5.2. Biosíntesis.....	31
2.5.3. Regulación de la biosíntesis.....	34
2.5.4. Transporte y excreción.....	36
2.5.5. Funciones del colesterol.....	37
2.5.6. Metabolismo de quilomicrones.....	38
2.5.7. El colesterol en la reproducción de bovinos.....	39
2.6 Pectina.....	40
2.6.1. Estructura y función.....	41
2.6.2. Efecto de las enzimas pectinolíticas.....	42

2.6.3. Efecto de la pectina en dietas para animales y humanos.....	42
3. HIPÓTESIS.....	44
4. OBJETIVOS.....	44
4.1. Objetivo general.....	44
4.2. Objetivos específicos.....	44
5. MATERIALES Y MÉTODOS.....	45
5.1. Primera parte. Análisis de forrajes tropicales y degradabilidad <i>in situ</i> del pasto Estrella.....	45
5.1.1. Lugar de recolección.....	45
5.1.2. Forrajes.....	45
5.1.3. Degradabilidad <i>in situ</i>	46
5.1.3.1. Lugar de estudio.....	46
5.1.3.2. Animales y alimentación.....	46
5.1.3.3. Incubación de forraje en el rumen.....	47
5.1.3.4. Incubación de forraje en el intestino.....	47
5.2. Segunda Parte. Digestibilidad <i>in vitro</i> y estudio del metabolismo digestivo con dosificación de β -caroteno e infusión de pectina vía duodenal.....	48
5.2.1. Digestibilidad <i>in vitro</i>	48
5.2.1.1. Lugar de estudio.....	48
5.2.1.2. Animales y alimentación.....	48
5.2.1.3. Incubación de forraje.....	49
5.2.2 Prueba de digestibilidad metabólica.....	50
5.2.2.1 Lugar de estudio.....	50
5.2.2.2 Animales.....	51
5.2.2.3. Distribución de tratamientos-animales.....	51
5.2.2.4. Recolección de líquido ruminal.....	52
5.2.2.5. Recolección de muestras de fluido duodenal y materia fecal.....	52
5.2.2.6. Muestreo de sangre.....	53
5.3. Métodos analíticos.....	53
5.3.1. Humedad y materia seca.....	53
5.3.2. Cenizas.....	54
5.3.3. Contenido de grasa cruda.....	54
5.3.4 Contenido de proteína.....	55
5.3.5. Fibra detergente neutra (FDN).....	56
5.3.6. Fibra detergente ácido (FDA).....	56
5.3.7 Cromo.....	56
5.3.8. Ácidos grasos volátiles (AGV).....	57
5.3.9. pH ruminal.....	58
5.3.10. Carotenoides totales.....	58
5.3.11. Colesterol.....	59
5.3.12. Pigmentos: β -Caroteno, Clorofilas a y b.....	60

5.4. Diseño experimental y análisis estadísticos.....	61
5.4.1. Degradabilidad <i>in vitro</i> e <i>in situ</i>	61
5.4.2. Digestibilidad <i>in vivo</i>	61
6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	63
6.1. Primera parte. Análisis de forrajes tropicales y degradabilidad <i>in situ</i> del pasto estrella.....	63
6.1.1. Composición bromatológica de los forrajes.....	63
6.1.2. Desaparición de MS y carotenoides totales en el rumen.....	64
6.1.3. Desaparición de carotenoides en el intestino.....	66
6.2. Segunda Parte. Digestibilidad <i>in vitro</i> y estudio del metabolismo digestivo con dosificación de β -caroteno e infusión de pectina vía duodenal.....	68
6.2.1. Digestibilidad <i>in vitro</i> de la alfalfa.....	68
6.2.2. Metabolismo digestivo de nutrientes y pigmentos.....	70
7. CONCLUSIONES.....	85
8. BIBLIOGRAFIA.....	86
ANEXOS.....	103
PRODUCTIVIDAD.....	120
ARTICULO DE INVESTIGACION.....	122

INDICE DE TABLAS

1. Concentraciones de β -caroteno en diferentes forrajes (Santamaria, 2003).....	17
2. Componentes estructurales de las clorofilas (Lee, 2002; Hendry, 2000).....	20
3. Intervalo de concentración de colesterol en algunas especies (mg/dL) (Bush,1982)....	39
4. Horario de recolección de muestras de líquido duodenal y materia fecal.....	52
5. Análisis bromatológico de los forrajes estudiados.....	63
6. Desaparición de carotenoides totales en <i>Cynodon plectostachium</i> en el tracto digestivo de bovinos.....	66
7. Concentración promedio de ácidos grasos volátiles y pH en el contenido ruminal.....	70
8. Consumo de nutrientes y pigmentos durante los periodos de la prueba metabólica en bovinos dosificados con pectina vía duodeno.....	71
9. Flujo de nutrientes y pigmentos de duodeno a heces (digestibilidad postruminal) en bovinos dosificados con diferentes concentraciones de pectina vía duodeno.....	72
10. Flujo de nutrientes y pigmentos de la ingesta del alimento a heces (digestibilidad total) en bovinos dosificados con diferentes concentraciones de pectina vía duodeno....	74
11. Digestión de nutrientes y absorción de pigmentos de duodeno a heces (digestión postruminal) en bovinos dosificados con diferentes concentraciones de pectina vía duodeno.....	76
12. Digestión de nutrientes y absorción de pigmentos de la ingesta del alimento a heces (digestibilidad total) en bovinos dosificados con diferentes concentraciones de pectina vía duodeno.....	78
13. Colesterol total en sangre en bovinos dosificados con diferentes concentraciones de pectina vía duodeno.....	83

INDICE DE FIGURAS

1. Estructuras y características de los carotenos más comunes en los alimentos (Rodríguez Amaya, 1999).....	13
2. Estructuras y características de las xantofilas más comunes en los alimentos (Rodríguez Amaya, 1999).....	14
3. Algunas propiedades fisicoquímicas de los carotenoides.....	15
4. Contenido de β -caroteno de diferentes forrajes (DSM 1999-2005).....	18
5. Efecto del almacenamiento de b-caroteno en ensilados de forrajes (Manner, 2004).....	19
6. Estructura de las clorofilas a y b.....	21
7. Espectros de absorción de las clorofilas a y b.....	22
8. Estructura del colesterol.....	31
9. Estructura del isopreno.....	33
10. Formación de isopentenil pirofosfato y dimetilalil pirofosfato.....	33
11. Formación de isopentenil pirofosfato.....	33
12. Formación de lanosterol a partir de isoprenos activos.....	34
13. Transformación de lanosterol a colesterol.....	35
14. Transporte y conversión de las grasas.....	37
15. Pectina con: a) bajo grado de metoxilos; b) alto grado de metoxilación.....	41
16. Desaparición <i>in situ</i> de MS y carotenoides totales de pasto Estrella en el rumen de novillos Holstein.....	65
17. Desaparición de MS de alfalfa en el rumen de novillos Holstein.....	69
18. Desaparición de carotenoides totales de alfalfa en el rumen de novillos Holstein.....	69
19. Posible interacción entre pectina y β -caroteno.....	80

ANEXOS

1. Simulación de la digestión abomasal.....	104
2. Saliva MacDougall.....	104
3. Distribución de los tratamientos en cuatro periodos para el estudio del efecto de β -caroteno en interacción con pectina.....	104
4. Determinación de fibra detergente neutra (FDN).....	105
5. Determinación de fibra detergente ácida (FDA).....	106
6. Curva estándar de colesterol.....	107
7. Curva estándar de β -caroteno.....	108
8. Curva estándar de clorofila a.....	109
9. Curva estándar de clorofila b.....	110
10. Análisis de varianza: variables bromatológicas de los pastos estudiados.....	111
11. Análisis de varianza: degradabilidad de MS y carotenoides totales en el rumen, duodeno y tracto total.....	112
12. Comparación múltiple de medias de Tukey: degradabilidad de MS y carotenoides totales en el rumen.....	113
13. Análisis de Varianza: degradabilidad de MS y carotenoides de alfalfa <i>in Vitro</i>	114
14. Análisis de varianza entre tratamientos (concentración de pectina): Flujo de nutrientes y pigmentos de duodeno a heces (postruminal).....	115
15. Análisis de varianza entre tratamientos (concentración de pectina): Flujo de nutrientes y pigmentos del alimento consumido a heces (digestibilidad total).....	116
16. Análisis de varianza entre tratamientos (concentración de pectina): Digestión de nutrientes y absorción de pigmentos de duodeno a heces (digestión postruminal).....	117
17. Análisis de varianza entre tratamientos (concentración de pectina): Digestión de nutrientes y absorción de pigmentos de la ingesta del alimento a heces (digestibilidad total).....	118
18. Análisis de varianza entre tratamientos (concentración de pectina): colesterol total en sangre.....	119

RESUMEN

El objetivo de la presente tesis fue estudiar los procesos fisiológicos involucrados en la disminución de la concentración y digestibilidad de carotenoides en las dietas de bovinos y su interacción con pectina, con el fin de disminuir la absorción de estos pigmentos y con esto, reducir el color amarillo que dicha absorción ocasiona en la grasa. El trabajo experimental se dividió en dos partes. La primera consistió en la caracterización de los forrajes tropicales más comunes en zonas tropicales de México. Posteriormente, y con base en esta caracterización, se seleccionó pasto Estrella (*Cynodon plectostachium*) como material de prueba en estudios *in situ* de la disminución en la concentración de carotenoides. La segunda parte consistió en el estudio metabólico digestivo de la pectina infundida en el duodeno, como antagonista de pigmentos carotenoides con el fin de disminuir su absorción intestinal.

Primera Parte. Análisis de forrajes tropicales y degradabilidad in situ del pasto Estrella

Se recolectaron en el Estado de Veracruz y Tabasco 5 especies de forrajes, 15 muestras de forraje por cada especie con 21 a 25 días de rebrote prefloración. Con base en sus características de crecimiento y bromatológicas, se seleccionó pasto Estrella como material de estudio para ser evaluada en 4 novillos Holstein (384 ± 60 kg) canulados en el rumen y en el duodeno. La disminución de los nutrientes durante el paso por el intestino se determinó mediante la técnica de bolsas móviles, la cual consistió en colocar en bolsas de nylon una cantidad conocida del forraje a estudiar; estas bolsas se introdujeron a través de la cánula del rumen e incubaron por un tiempo determinado. Posteriormente las bolsas se retiraron, se sumergieron en una solución que simulaba la digestión abomasal, y se introdujo un total de 20 bolsas en lotes de 5 a través de la cánula del duodeno hacia el intestino delgado, con tiempos de 15 minutos de separación en la introducción de cada lote. Las bolsas se recolectaron de las heces; una vez lavadas, se analizó el contenido de carotenoides totales y de materia seca (MS). Se observó una disminución significativa de carotenoides ($P < 0.001$) en el rumen durante las primeras 12 h; posteriormente, entre 24 y 72 h, esta disminución no fue significativa ($P = 0.71$). El índice de correlación entre la disminución de MS y los carotenoides totales en el rumen fue $r = 0.997$ ($P < 0.001$). Alrededor de 53% de la

concentración de carotenoides contenidos en *Cynodon* spp. en las bolsas duodenales (no incubadas previamente en rumen) disminuyó cuando se introdujeron en el intestino delgado. Como se esperaba, las bolsas con más tiempo de incubación en el rumen contenían menor concentración de carotenoides y, por lo tanto, la cantidad total degradada en el intestino delgado se redujo significativamente ($P < 0.001$). Los resultados de este estudio mostraron que una proporción alta de carotenoides no fueron degradados a través de rutas metabólicas microbianas en el rumen. Se concluyó que el tiempo de incubación es un factor que contribuye a la variación en la biodisponibilidad de los carotenoides.

Segunda Parte. Digestibilidad in vitro y estudio del metabolismo digestivo con dosificación de β -caroteno e infusión de pectina vía duodenal

Se utilizaron 4 becerros Holstein con un peso promedio de 462.5 kg con cánulas ruminal y duodenal. El alimento se suministró dos veces al día (7:00 y 19:00 horas), con un consumo total aproximado por día de 9.603 kg (MS). Se incluyeron en las dietas dosis de pectina baja (0.004%); media (0.02%) y alta (0.01%), y 3 g de β -caroteno. El control consistió en la dieta sin pectina ni β -caroteno. Se empleó una dosis de 0.4% de óxido de cromo como marcador de la digesta. Las dosis de pectina se suplementaron por infusión por vía de la cánula duodenal; el cromo y β -caroteno fueron administradas directamente en la cánula de rumen. Se emplearon 10 días de adaptación y 5 días de muestreo en un diseño en Cuadro Latino. Las variables de respuesta fueron: materia seca, materia orgánica, proteína y fibra detergente neutra, β -caroteno, clorofila a y clorofila b en líquido ruminal, líquido duodenal y heces. Adicionalmente, se analizó colesterol en sangre y grasa en heces. No se observaron diferencias significativas ($P = 0.202$) entre los cuatro tratamientos en el flujo postruminal de materia seca, materia orgánica, proteína y fibra detergente neutra; de forma opuesta, se observaron diferencias significativas ($P = 0.0002$) entre los tratamientos con respecto al flujo de β -caroteno y clorofilas b ($P < 0.001$). Al suministrar 0.004 y 0.01% de pectina se duplicó la excreción de β -caroteno en comparación con el testigo. Sin embargo, al suministrar 0.02% de pectina se incrementó por un factor de 4 la excreción de β -caroteno. La correlación entre la dosis de pectina y la excreción de β -caroteno en el tracto total fue $r = 0.912$ ($P = 0.02$). La digestibilidad postruminal de β -caroteno disminuyó con la administración de la pectina, mientras que el efecto en la disminución de absorción o digestibilidad fue proporcional a la dosis de pectina administrada ($P < 0.05$). Las dosis baja (0.004%) e intermedia (0.01%) de

pectina no afectaron significativamente ($P=0.72$) a la digestibilidad total de β -caroteno, aunque se observó una disminución de la digestibilidad entre 44.5 y 55.5%.

La concentración de clorofila *a* y *b* no presentaron diferencia significativa entre los tratamientos ($P=0.77$). La digestibilidad de la clorofila *a* no presentó diferencias significativas ($P=0.43$) entre los tratamientos ($X_{\text{digestión}} = 99.8\%$). La absorción de la clorofila *b* aumentó tres veces en comparación con el tratamiento testigo ($P=0.004$), aunque no hubo diferencias significativas entre los tratamientos que incluían pectina. La concentración de colesterol sanguíneo decreció 15.6, 18 y 27% cuando se suministró pectina. En conclusión, la administración de pectina disminuyó la absorción de β -caroteno, clorofila *b* y colesterol hemático.

SUMMARY

The aim of this thesis was to study the physiological processes in bovines involved in the disappearance and digestibility of carotenoids found in feeds, and the interaction of these pigments with pectin to reduce β -carotene absorption leading to “yellow fat” incidence. The experimental work was divided in two parts. The first one involved the analysis of the most common forages used in tropical areas of Mexico. Based on their characteristics, Star grass (*Cynodon plectostachium*) was selected for experiments *in situ* on carotenoid absorption. The second part was focused on metabolic studies of pectin infused to the duodenum as an antagonist to carotenoids for reducing pigment intestinal absorption.

First Part. Tropical forage analysis and in situ degradability of Star grass

Samples of fifteen forage species were collected from seven regions of Veracruz State; the samples were at 21 to 25 days preflowering regrowth. Based on forage growth and bromatological characteristics, Star grass was selected as study material. Four Holstein steers (384±60 kg), cannulated at the rumen and duodenum, were studied. Nutrient decrease through the intestine was studied by the mobile nylon bag technique. Nylon bags, containing a known amount of forage, were introduced by the cannula into the rumen. After a given time of incubation, the bags were removed and placed into a solution simulating abomasal digestion. A total of 20 bags divided into 5 batches were placed through the duodenum cannula towards the small intestine; the batches were introduced into the duodenum every 15 min. The bags were then collected from feces, washed, and total carotenoid and dry matter (DM) analyzed. Carotenoid concentration significantly decreased ($P<0.001$) in the rumen during the first 12 h; further decrease between 24 and 72 h was not significant ($P=0.71$). Correlation index for DM and total carotenoids in the rumen was $r=0.997$ ($P<0.001$). Approximately 53% carotenoids in *Cynodon* spp. contained in duodenum bags (bags not previously incubated in the rumen) disappeared when introduced in the small intestine. As expected, bags incubated for longer periods of time contained less carotenoid concentration and, therefore, the total pigment amount disappearance in the small intestine was significantly reduced ($P<0.001$). The results of this study showed that considerably high carotenoid

proportions were not degraded through microbial metabolic pathways in the rumen. It was concluded that the incubation time was a factor affecting bioavailability of carotenoids.

Second Part. In vitro digestability and digestive metabolism studies on duodenum β -carotene dosification and pectine infusion

Four Holstein steers (average weight 462.5 kg) with duodenal and ruminal cannulas were studied. Feed was supplied twice a day (7:00 and 19:00), 9.603 kg (DM) approximate total daily intake. Low (0.004%), medium (0.01%) and high (0.02) pectin levels were infused through the duodenum. No pectin or β -carotene were included in the control; 0.4% chromium oxide was used as a digesta marker, infused through the ruminal cannula together with 3 g β -carotene. The animals were subjected to 10 days adaptation and 5 days sampling allocated to a 4x4 Latin Square experimental design. The response variables were: dry matter, organic matter, protein, neutral detergent fiber, β -carotene, chlorophyll a and chlorophyll b, analyzed in the ruminal liquid, duodenal liquid and feces. In addition, cholesterol concentration was analyzed in blood and feces. Not significant differences were observed for the four treatments in dry matter, organic matter, protein and fiber in post-ruminal flow ($P=0.202$). Conversely, significant differences were observed with respect to β -carotene and chlorophylls a and b in the post-ruminal flow ($P=0.0002$). β -carotene excretion increased twice with 0.004 and 0.01% pectin infusion. Moreover, four-fold β -carotene excretion was observed with 0.02% pectin infusion. Correlation index for pectine dose and β -carotene excretion was $r=0.912$ ($P=0.02$). β -carotene post-ruminal digestibility decreased with pectine supply, whereas absorption or digestibility was proportional to the pectine dose ($P=0.05$); 44.5 to 55.5% decrease in digestibility was observed.

No significant differences were observed among treatments for chlorophyll a and b concentration ($P=0.77$). Digestibility of chlorophyll a pigment had not significant differences among treatments ($P=0.43$) ($X_{\text{digestibility}} = 99.8\%$) Absorption of chlorophyll b increased three-fold when pectine was infused as compared to the control ($P=0.004$) although not significant differences were observed among pectin-containing treatments. Blood cholesterol decreased 15.6, 18 and 27% when pectin was infused. It was concluded that pectin supply decreased β -carotene, chlorophyll b and blood cholesterol, but not chlorophyll a absorption.

1. INTRODUCCIÓN

Una de las principales limitantes en la producción de carne de bovino en México es la pigmentación amarilla del tejido adiposo en las canales de bovinos, cuando son engordados en pastoreo. Este problema disminuye la comercialización tanto en el mercado nacional como en el extranjero. El color de la grasa está determinado por pigmentos ingeridos durante el pastoreo. Específicamente, el problema radica en el consumo de forrajes verdes, los cuales contienen abundantes pigmentos, incluyendo a los carotenoides y pigmentos naturales liposolubles.

El β -caroteno, uno de los carotenoides más abundantes en la naturaleza, también es el que se encuentra en mayor proporción en tejido adiposo de los rumiantes, dando la coloración amarilla a este tejido (Mora, 1999). Aunque los carotenos son una fuente importante de Vitamina A, no todo el β -caroteno ingerido y absorbido es transformado a esta vitamina; una cantidad considerable puede circular en la sangre y se deposita en el tejido adiposo e hígado, dando como resultado el depósito de β -carotenos no transformados. Como consecuencia, se presenta el color amarillo en la grasa de las canales de bovinos finalizados en pastoreo. De ahí surge la necesidad de los productores de ganado bovino por disminuir la tonalidad amarilla de la grasa de la canal. Esto ha llevado a utilizar diferentes métodos, como la alimentación de los animales con dietas con abundante grano en confinamiento, algunos meses antes de su sacrificio, o cubrir las canales con mantas humedecidas de una solución alcalina, para disminuir la coloración y comercializar las canales pigmentadas en cortes, o comercializar las canales en mercados menos exigentes, aunque todos estos métodos no solucionan completamente el problema, además que aumentan los costos de producción (Barrón-Gutiérrez, 2004).

El tejido interno de la cáscara de los cítricos, de color blanco, es rica en pectina. A este polisacárido se le dan distintas aplicaciones, principalmente en la industria alimentaria, como espesante, debido a su capacidad gelificante. Además, la pectina ha tenido numerosos usos en medicina y farmacia por su capacidad antimetabólica, como reductor de colesterol y como desintoxicante (Guess, 2003). Tiene también la capacidad de atrapar ciertos compuestos a nivel intestinal, reduciendo la absorción de algunos nutrientes, así como

disminuir la velocidad del vaciado gástrico (Kay, 1977). Con respecto a su uso en la nutrición de animales, algunas investigaciones realizadas en pollos y en animales de laboratorio reportan efectos de la pectina como antagonista sobre la absorción de los carotenoides (Erdman, 1986; Judd y Truswell, 1985), pero no se han encontrado reportes de interacción entre pigmentos y la administración de pectina en rumiantes.

El objetivo del presente estudio es estudiar la desaparición y digestibilidad de los pigmentos carotenoides en el canal digestivo de rumiantes y el efecto de la pectina como antagonista en la absorción de carotenoides, lo cual dará como resultado una disminución del depósito de estos pigmentos en el tejido adiposo.

2. ANTECEDENTES

2.1. Situación de la ganadería bovina en México

La ganadería existente en el país es una actividad pecuaria que se desarrolla en prácticamente todos los ecosistemas del país; dispone de razas nativas y adaptadas especializadas en la producción de carne y leche. El ganado productor de carne se produce en sistemas extensivos e intensivos. El primero es el predominante, ocupa 80% de la producción y se ubica principalmente en las regiones tropicales y subtropicales del país. El segundo, el intensivo, es más eficiente, pero los costos de producción son altos. Sin embargo, las limitantes en la producción de carne se refieren a los parámetros zootécnicos, tales como porcentajes de mortalidad por enfermedades infecciosas y carenciales, los cuales representan pérdidas mayores a 10% (SIAP,2012)

2.1.1. Unidades de producción bovina en las regiones ecológicas del país

Se distinguen las siguientes regiones ganaderas en México: 1) árida y semiárida, 2) templada, 3) tropical seca y 4) tropical húmeda. La tropical húmeda y seca contienen 50.6% de la población ganadera, mientras que 28% está en la región árida y semiárida, y 21% en la zona templada (SAGARPA 2010, 2011). Sin embargo, las regiones tropicales han contribuido solamente con cerca de 38% de la producción nacional de carne y 14% de la producción nacional de leche en años recientes (SIAP, 2010).

La región árida y semiárida está integrada por los estados del norte y noroeste del país, incluye la Península de Baja California, Tamaulipas, Sonora, Durango, San Luis Potosí y Zacatecas. Las unidades de producción es vaca-becerro, con la venta de las crías al destete. Predomina el ganado Angus, Charolais y Hereford, en cruzamientos con cebuinos, además de Beefmaster y Brangus. En estas regiones los agostaderos se encuentran totalmente deteriorados debido a la sequía extrema que se está padeciendo, pero más importante, al sobrepastoreo a que han sido sometidos por décadas. Las unidades de producción intensivas persisten en la zona y son las más eficientes del país. Sin embargo, por los altos costos de la producción de insumos, debido a la sequía, se han deteriorado.

La región templada está integrada por los estados de Aguascalientes, Guanajuato, Hidalgo, Jalisco, México, Michoacán, Oaxaca, Querétaro, Puebla y Tlaxcala. La producción está orientada al sistema vaca-becerro para el envío de crías al mercado nacional o internacional, dependiendo de su clasificación. Se aprovechan pastizales nativos, complementados, en algunos casos, con subproductos agrícolas. Sin embargo, los recursos de los pastizales se han deteriorado por el sobrepastoreo en tierras comunales, falta de inversión y cuidado de forrajes nativos y mejorados, desconocimiento y falta de asesoría en técnicas de cultivos y problemas asociados a la erosión del suelo. Por otro lado, se realizan engordas intensivas con granos, para el abasto regional y de la zona metropolitana de la Ciudad de México, pero subsiste el problema es la dependencia de insumos de importación que elevan los costos de producción. Los hatos están compuestos por animales criollos cruzados con cebuinos y razas europeas, de las cuales sobresalen Holstein, Suizo Pardo, Angus y Beefmaster (Esperon, 1993).

La región tropical seca comprende parte de los estados de Sinaloa, Nayarit, Jalisco, Michoacán, Guerrero, Oaxaca y Chiapas, el sur de Tamaulipas y la Huasteca Potosina. El pastoreo se realiza en agostaderos y en praderas inducidas. Debido a que la estación de lluvias es corta, la escasez de forraje durante la sequía repercute negativamente, al igual que en las dos regiones anteriores, en los parámetros reproductivos, dando lugar a una carga animal de alrededor de 12 ha/UA/año para agostaderos con vegetación nativa, de 8 ha/UA/año para pastos nativos, y 1 a 3 ha/UA/año en praderas inducidas (Jarillo, 2010). El sistema vaca-becerro con ordeña estacional en la época de lluvias, en áreas cercanas a los centros urbanos, constituye un sistema de doble propósito, que busca una mayor eficiencia en las unidades de producción. Se pueden efectuar la comercialización de la leche con ordeñas estacionales cuyos ciclos varían de acuerdo a los precios del producto; existen áreas ya con cierta tradición de productos lácteos en algunas regiones de Chiapas, Tabasco, Veracruz y las Huastecas. Los animales dominantes son cebuinos cruzados con Pardo Suizo, Simmental y Holstein. Esta región contribuye con 23% de la producción nacional de carne y representa 20% del total nacional (Galina y Guerrero, 1992).

La región tropical húmeda comprende los estados de Campeche, Quintana Roo, Tabasco, Veracruz, Yucatán y parte de Chiapas, con una superficie aproximada a 22.8 millones de ha. El hato está constituido por aproximadamente 11 millones de cabezas, predominantemente

de genotipo cebuino cruzado con Suizo Pardo, Holstein, Charolais y Simmental, aportando 33% de la producción nacional de carne. Los parámetros reproductivos son bajos, con carga media de 1 UA/ha/año, y 55-60 becerros destetados con un peso de 180-200 kg por cada 100 vacas en el hato, y 380-400 kg como peso al sacrificio. En esta región se combina de manera importante el doble propósito, con ordeño estacional y la engorda de las crías en praderas con pastos introducidos y agostaderos nativos (Mancilla, 2006).

2.1.2. Inventario Nacional

La población de bovinos en el país ha sido muy variable. Los datos estadísticos nacionales de 1960 mencionan una población de 17.4 millones de cabezas de ganado de carne; en 1981 el inventario incrementó a 34.7 millones, cantidad que se mantuvo constante hasta 1988, y disminuyó a 30.2 millones de cabezas en 1994 (CNG, 1996). El censo ganadero de 2007 reportó 23.3 millones de cabezas, localizadas principalmente en los estados de Veracruz, Jalisco, Chihuahua, Chiapas, Sonora, Durango y Tamaulipas, que en conjunto concentran el 47.8% del hato nacional (INEGI, 2007). Las causas de esta disminución han sido varias, principalmente las sequías severas de 1989-1990, además de las más recientes de 2006 hasta 2011 (Cárdenas, 2011), lo que ha propiciado la necesidad de sacrificar aproximadamente 10 millones de cabezas en el último periodo. La segunda causa fue la recesión económica del país en la década de 1990, cuando se incrementó el costo productivo de los insumos para la alimentación animal (Chauvet, 1996). La tercera causa fue la exportación masiva de becerros hacia Estados Unidos, lo que redujo la posibilidad de incrementar el índice de reemplazos, aunado a que una proporción significativa de vaquillas se destinó al abasto doméstico (Hernandez, 1991).

Por otra parte, la producción de carne de bovino es una de las actividades productivas más comunes en las regiones rurales del país; se ha mantenido como el eje en torno al cual se establecen diferentes tendencias de producción y el propio mercado de la carne en México. La producción bovina constituye una de las actividades importantes del sector pecuario nacional por la contribución que realiza a la oferta de productos cárnicos, así como por su participación en el sector comercial, donde la exportación de ganado en pie es una actividad fundamental. La producción de carne de bovino en el ámbito nacional alcanzó un volumen de 1,400,000 TM en 2001, con una tasa de crecimiento medio anual de 1997 a 2001 de 1.6%;

solamente en 2002 creció 0.43%. En 2008 la producción nacional de carne fue 1,600,000 TM con un crecimiento de 17.5% en el periodo 2000-2008 (Aranda, 2009).

2.1.3. Consumo de la carne de bovino

Las tradiciones culturales en el consumo de productos cárnicos han hecho que la carne de ganado bovino sea el eje ordenador de la demanda y de los precios de la carne de otras especies. Aunque el consumidor mexicano ha elaborado gran parte de sus alimentos con carne de bovino, en los últimos años los factores económicos y de salud han propiciado los cambios de hábitos en el consumo; de hecho el consumo de carne se rige principalmente por el precio. El Consumo Nacional Aparente (CNA) de carne de res en 2003 se ubicó en 1,600,000 TM y en 2007 en 1,900,000 TM. El consumo nacional per cápita de carne de res ha mostrado un crecimiento moderado en los últimos años, 17 kg en 2004 a 18 kg en 2007, muy bajo si se compara con otros países como Estados Unidos en donde el consumo aproximado es de 48.2 kg de carne per cápita (Casas, 2005). Sin embargo, México se sitúa como el quinto importador a nivel mundial de carne bovina (410,000 TM) por debajo de Estados Unidos, Rusia, la Unión Europea y Japón (Pérez Del Castillo, 2009).

2.1.4. Impacto económico del problema de grasa amarilla en la canal

El color del tejido adiposo subcutáneo es un componente importante en la calidad de las canales en bovinos (Wood y Fisher, 1997), considerado como elemento de juicio en los sistemas de clasificación de los Estados Unidos, Canadá, Australia y Japón (Walker y col., 1990; Price, 1995), debido a que la variabilidad del color de la grasa en las canales se asocia a la calidad esperada por el mercado y los consumidores (Price, 1995). Crouse y Seideman (1984) observaron que tanto el color de la carne magra la grasa son cada vez más importantes para categorizar la calidad en la carne y los productos cárnicos. En una encuesta realizada en Japón, Corea, Taiwán, Hong Kong y México se observó que 80% de los encuestados estaban a favor de carne con tonalidad roja clara y grasa color ámbar (Dunne y col., 2009).

En la mayoría de los mercados donde se comercializa la carne, se rechazan las canales con grasa color amarillo intenso (Walker y col., 1990). Existen percepciones erróneas, tal como

suponer que el color amarillo en los tejidos indica que el animal se encontraba enfermo al momento del sacrificio (Dunne y col., 2009), o que la canal pertenece a animales viejos y, por tanto, tienen menor contenido de carne tierna, lo que redundaría en pérdidas económicas hasta por 900,000 dólares por año, según Barron-Gutial y col. (2004).

Sin embargo, también existe argumentos en el sentido inverso que asocian a la grasa amarilla en forma positiva con las tradiciones de producción de carne (Wood y Enser, 1997), percibiéndolo como criterio de calidad ecológicamente favorable (Dunne y col., 2009). Algunas regiones asiáticas asocian al color amarillo de la grasa con ganado sano que se (crió) con pasto o forraje, y por tanto acumulan carotenoides (Yang y col., 1992). Este punto de vista fundamenta la alimentación del ganado en pasturas como fuente de beneficios, particularmente relacionado con el perfil de ácidos grasos (French y col., 2000) y el contenido de antioxidantes (Wood y Enser, 1997). En este sentido, existe la posibilidad de utilizar el color o contenido de carotenoides como un indicador del historial de la dieta del animal y de la calidad nutricional de la carne (Prache y col., 2002). Sin embargo, el consumidor promedio rechaza una carne con grasa amarilla ya que no evalúa los posibles beneficios nutrimentales de la incorporación de carotenoides, para lo cual se requerirían campañas publicitarias intensas.

Debido a que el color amarillo de la grasa es de importancia económica es fundamental definir el límite de intensidad que es aceptable por el consumidor. Con base a esto, se pueden definir los días de finalización de los novillos en corral. Morgan y Everitt (1968) relacionaron el contenido de carotenoides en la sangre y el tejido adiposo estableciendo una correlación ($r=0.92$) entre la concentración del caroteno y la intensidad del color amarillo, mientras que Strachan y col. (1993) correlacionaron la concentración de β -caroteno y luteína sanguíneas con la tonalidad amarilla de la grasa intermuscular, obteniendo coeficientes de correlación menores ($r=0.7$ a 0.8). De forma similar, Yang y col. (1993) reportaron la relación entre el tejido adiposo amarillo y la concentración total de carotenoides en el tejido ($r=0.79$). Sin embargo, Swatland (1988) encontró que esta relación es subjetiva respecto al color amarillo en el tejido adiposo debido a que otros factores y metabolitos están involucrados también en la presencia de este color en la grasa.

El color amarillo de la grasa subcutánea, independientemente de su intensidad, demerita el valor económico de la carne y causa severas pérdidas económicas a una región o país, como es el caso de México. Una forma de contrarrestar estas pérdidas es finalizar a los bovinos con granos; esta práctica permite que disminuya o desaparezca el color amarillo en el tejido adiposo. Sin embargo, existe controversia acerca del tiempo necesario para lograr esta disminución o desaparición, ya que un mayor tiempo involucrado en el manejo repercute en la necesidad de mayor inversión en los rubros de exclusión de forraje sea 90 días antes del sacrificio (Miller, 2002). Hay que tomar en consideración que, además del tiempo óptimo de exclusión, influyen en la pigmentación de la grasa los tipos de pasturas, las razas, la edad al sacrificio y la región específica, entre otros factores. Al respecto, Dunne y col. (2006) reportaron que suministrando concentrados por 26 a 56 días fue suficiente para disminuir el color amarillo en novillas y novillos en corral, respectivamente; la intensidad del color disminuyó hasta el día 112 de finalización. En conclusión, no se ha establecido el límite en la intensidad de color amarillo que puede ser aceptado por el consumidor; este depende de varios factores relacionados con el animal y el sistema de producción. Las pérdidas económicas ocasionadas por la apariencia de la grasa son considerablemente altas, y se deben contrarrestar a través de la disminución del color o con campañas de publicidad dirigidas a la aceptación de la apariencia por parte del consumidor.

2.2. Importancia de los forrajes en la alimentación de bovinos de carne

México cuenta con una superficie ganadera de 175.750 millones de hectáreas, de las cuales el 64% pertenece a la región tropical, con una población ganadera bovina superior a los 20 millones de cabezas (SIAP, 2012).

La región tropical ganadera de México (alrededor de 115,000 millones de ha) produciendo 35% de carne y 25% de leche del país (SIAP, 2012) puede mejorarse con una producción adecuada de forrajes, lo que permitiría incrementar la carga animal de 2 a 4 cabezas por ha, con unidades de producción racionales, intensivas y sustentables (Jarillo y col., 2010). El pastoreo del ganado se realiza principalmente con gramas nativas de los géneros *Axonopus spp.* y *Paspalum spp.*, con bajo potencial de producción de materia seca en comparación con las gramíneas introducidas. Entre estas últimas, destacan los géneros *Panicum*, *Cynodon*, *Digitaria*, *Pennisetum*, *Hyparrhenia*, *Cenchrus* y en los últimos años, han tenido

importancia algunas especies de los géneros *Brachiaria* y *Andropogon*; todas procedentes del continente africano (Enríquez y col., 1999).

El pasto Estrella de África (*Cynodon plectostachyus*) es la gramínea introducida más difundida en el trópico debido a sus características agronómicas que le permiten adaptarse a distintos tipos de suelos (Torres, 1993). La mayor producción del pasto Estrella de África se obtiene en la época de lluvias, seguida de la época de sequía. Esta variación en la disponibilidad de forrajes se refleja en forma directa en la producción animal (Cabrera, 1996). En la época de lluvias el crecimiento y producción de los pastos es mayor, el cual genera excedentes; sin embargo, el ganado no utiliza el pasto en forma óptima, ya que se desaprovecha un porcentaje considerable por efecto del pisoteo. En los suelos de baja a mediana fertilidad con pastos nativos, la carga animal debe de ser de 0.2 a 2.0 animales ha⁻¹, mientras que con gramíneas introducidas se pueden manejar cargas de 1 a 2 animales ha⁻¹, pero al ser fertilizadas se pueden sostener 2 a 4 animales ha⁻¹, y con altas dosis de fertilizante y riego de 4 a 8 animales ha⁻¹. En este intervalo de condiciones se podría producir de 15 a 800 kg de peso vivo ha⁻¹año⁻¹. El potencial de producción de carne en los trópicos, con diferentes sistemas de producción, está en función de la producción forrajera y ésta, a su vez, depende de la fertilidad del suelo y del desarrollo tecnológico (García, 1980).

El pasto Estrella de África proviene del este de África y se introdujo a México hace más de 30 años. Su siembra se expandió rápidamente, a casi todas las regiones tropicales y subtropicales del país. En suelos de fertilidad intermedia este pasto puede producir anualmente de 12 a 15 TM/ha de materia seca. El contenido de proteína total en base seca y la digestibilidad de la materia seca varían de 5.7 a 15% y de 35.4 a 55.7%, dependiendo de la edad, época de corte y tipo de suelo (Meléndez y col., 1980; Reyes-Purata y col., 2009). Este pasto responde bien a los fertilizantes nitrogenados, con lo cual puede producir hasta 25 TM/ha/año de materia seca (Meléndez, 1996). Es sumamente agresivo, compite bien con las malezas y es relativamente fácil de establecer; entre los pastos cultivados es uno de los más resistentes a la salinidad del suelo (Espinoza y col., 2001). Es fácilmente adaptable a una gama muy amplia de suelos; sin embargo, ha tenido problemas de persistencia en los suelos muy ácidos (pH<5) y con altos niveles de aluminio intercambiable, así como en suelos inundables, que presentan láminas de agua superior a 20 cm por períodos de más de cuatro semanas. Este pasto no produce semillas fértiles, por lo que únicamente se puede

establecer empleando trozos de tallos o “guías”, dependiendo del método que se emplee para la siembra (Espinoza y col., 2001; Meléndez, 1996).

El pasto Estrella de África se considera de una calidad intermedia, pero, con un buen manejo, se puede emplear en cualquier sistema de producción. Cuando se emplea grano como suplemento alimenticio, funciona muy bien al alimentar ganado lechero en producción o bovinos en desarrollo y en engorda. Puede sostener 1 a 1.5 cabezas/ha/año; sin embargo, con la aplicación anual de 300 kg/ha de urea la carga animal se puede elevar de 3 a 3.5 cabezas/ha/año. Durante la época de lluvias se recupera en 20 a 25 días; en época de “nortes” requiere 35 días y en época seca 25 a 30 días (Espinoza y col. 2001; Meléndez, 1996).

El mejoramiento alimenticio de los bovinos en pastoreo debe de considerar su dependencia del medio y a factores variables del clima, sistema de producción, razas y manejos zootécnicos. No obstante, el producto final –la carne– es un producto de alto valor nutritivo y aceptabilidad por parte del consumidor. Entre los factores de aceptabilidad sobresale el color de la carne y del tejido adiposo, el cual se asocia por parte del consumidor con carne libre de contaminantes y procedente de animales sanos. De aquí que los compuestos químicos que ingresen al animal y se depositen en la carne y/o grasa, son de primera importancia para la determinación de la calidad de este producto final.

2.3. Principales pigmentos en los forrajes

2.3.1. Carotenoides

2.3.1.1. Fuentes y estructura

Los carotenoides son pigmentos responsables de los colores amarillo, naranja y rojo en la naturaleza; una vez extraídos de sus fuentes, son empleados ampliamente en alimentos, productos farmacéuticos, cosméticos y alimentos. Se utilizan ampliamente debido a su actividad como provitamina A y a sus posibles funciones benéficas para la salud, tales como el fortalecimiento del sistema inmunitario y la disminución del riesgo de enfermedad degenerativas como ciertos tipos de cáncer, enfermedades cardiovasculares, degeneración

macular y cataratas (Niizu, 2005). Se han identificado en la naturaleza más de 800 carotenoides (Arad, 1992; Wrolstand, 2000; Ong y Tee, 1992). Se estima que anualmente se sintetizan 100,000 TM de carotenoides de fuentes naturales. Estos compuestos adquieren su nombre del β -caroteno, muy abundante en la zanahoria (*Daucus carotas*).

Los carotenoides se encuentran en mayor concentración y variedad en las frutas y verduras como jitomates, zanahorias, piñas y cítricos; en las flores como el cempasúchil y el girasol; en las semillas como el achiote; en algunas estructuras animales como el plumaje de los flamencos y de los canarios; en los músculos de algunos peces como los salmones y las truchas; en crustáceo como el camarón, la langosta y el cangrejo; en microalgas como *Haematococcus pluvialis*; en levaduras como *Phaffia rhodozyma*; y en bacterias como *Corynebacterium poinsettiae* (Arad y Yaron, 1992). Aunque también se encuentran ampliamente distribuidos en las hojas verdes, en éstas sólo se observan en el invierno cuando la clorofila, presente con mayor abundancia, desaparece. Este tipo de pigmentos ingresan al organismo de animales por ingestión, ya que éstos no pueden sintetizarlos *de novo* (Guerrero, 2005).

La estructura básica de los carotenoides es un tetraterpeno de 40 átomos de carbono, simétrico y lineal, formado por ocho unidades de isopreno (5 átomos de carbono) unidas de manera tal que el orden se invierte al centro de la estructura. Este esqueleto básico puede modificarse de varias maneras: por hidrogenación, deshidrogenación, ciclación, cambio de posición del doble enlace, acortamiento o extensión de la cadena, reordenamiento, isomerización, introducción de funciones oxigenadas o por combinaciones de estos procesos, dando como resultado una gran diversidad de estructuras. El rasgo estructural distintivo de los carotenoides es un sistema de dobles enlaces conjugados, el cual consiste en alternar enlaces sencillos y dobles. Esta cadena poliénica es también la causa de la inestabilidad de los carotenoides, incluyendo su susceptibilidad a la oxidación e isomerización geométrica (Rodríguez-Amaya, 1999).

Los carotenoides hidrocarbonados se denominan colectivamente carotenos (Figura 1); los que contienen átomos de oxígeno se denominan xantofilas (Figura 2). Las funciones oxigenadas más comunes son los grupos hidroxilo (OH) y epoxi (epóxidos 5,6 ó 5,8), aldehído (CHO), ceto (C=O), carboxi (CO₂H), carbometoxi (CO₂CH₃) y metoxi (OCH₃) (Rodríguez-

Amaya, 1999). Tanto los carotenos como las xantofilas pueden ser acíclicos, como el fitoflueno, el ϵ -caroteno y el licopeno; monocíclicos o bicíclicos. La ciclización ocurre en uno o ambos extremos de la molécula, formando uno o dos anillos β de seis miembros (β -ionona) o anillos ϵ (α -ionona). Así, el monocíclico γ -caroteno tiene un anillo β mientras; los bicíclicos β -caroteno, β -criptoxantina, zeaxantina y astaxantina tienen dos anillos. Los bicíclicos α -caroteno y luteína contienen un anillo β y un anillo ϵ (Rodríguez-Amaya y col., 1996). Los factores como el calor, la luz y los ácidos causan la isomerización de los carotenoides de la geometría *cis*, presente en la naturaleza, a *trans*, lo que ocasiona una pérdida de color y de la actividad provitamina. Los carotenoides también son susceptibles a la oxidación enzimática y no enzimática, lo que depende de la su estructura, la disponibilidad de oxígeno, la presencia de enzimas, metales, prooxidantes y antioxidantes, y la temperatura y exposición a la luz (Johnson, 1995).

La intensidad y matiz de los colores de los materiales biológicos dependen del carotenoide específico presente, su concentración y su estado físico. Cada carotenoide se caracteriza por un espectro de absorción. Estos pigmentos absorben la luz en la regiones específica de la radiación ultravioleta (UV) y visible, el resto es transmitida o reflejada produciendo un color determinado. La estructura responsable de la absorción de la luz es un grupo cromóforo. Se requieren al menos siete enlaces dobles conjugados para que un carotenoide produzca color, como en ζ -caroteno, el cual es amarillo suave; en forma opuesta el fitoflueno, con cinco dobles enlaces conjugados, es incoloro. El color varía si se extiende el sistema conjugado; así, el licopeno es rojo. Las estructuras cicladas en los extremos de la molécula también causa modificaciones en el color, por tanto el β -caroteno y el γ -caroteno son de color naranja y rojo-naranja, respectivamente, aunque ambos tienen, al igual que el licopeno, once dobles enlaces conjugados (Bruto, 1991).

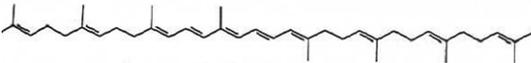
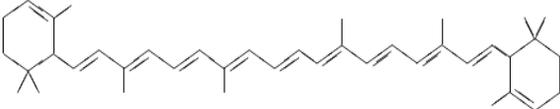
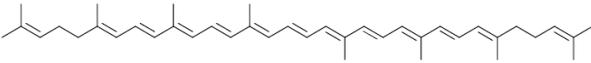
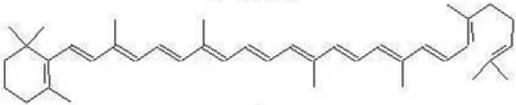
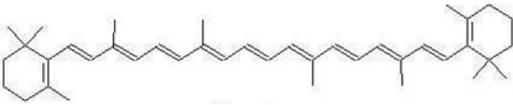
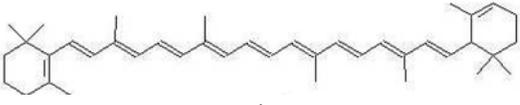
Estructura	Características
	acíclico, incoloro
	acíclico, amarillo suave
	acíclico, rojo
	monocíclico, 1 anillo β rojo-naranja
	bicíclico, 2 anillos β naranja
	bicíclico, 1 anillo β , 1 anillo γ Amarillo

Figura 1. Estructuras y características de los carotenos más comunes en los alimentos.
(Rodríguez Amaya, 1999)

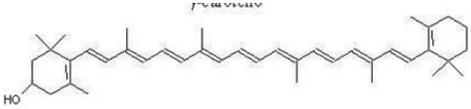
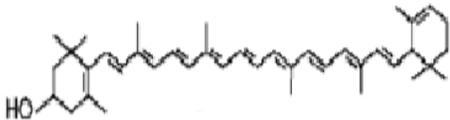
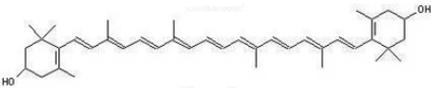
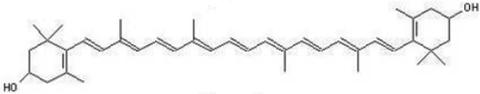
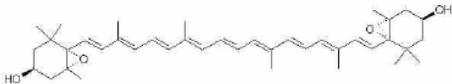
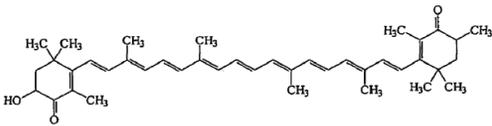
Estructura/nombre	Características	Función con oxígeno
 <p>β-Criptoxantina</p>	bicíclica (2 anillos β) naranja	1 grupo hidroxilo
 <p>α-Criptoxantina</p>	bicíclica (1 anillo β , 1 anillo ϵ), amarillo	1 grupo hidroxilo
 <p>Zeaxantina</p>	bicíclica (2 anillos β), amarillo-naranja	2 grupo hidroxilo
 <p>Luteina</p>	bicíclica (1 anillo β 1 anillo ϵ), amarilla	2 grupo hidroxilo
 <p>Violaxantina</p>	bicíclica, amarillo	2 grupos hidroxilo 2 grupos epoxi
 <p>Astaxantina</p>	bicíclica (2 anillos β), rojo	2 grupos hidroxilo 2 grupos ceto

Figura 2. Estructuras y características de las xantofilas más comunes en los alimentos (Rodríguez Amaya, 1999)

2.3.1.2. Función

Las propiedades físicas y químicas más importantes de los carotenoides incluyen insolubilidad en agua, unión con superficies hidrofóbicas, absorción de la luz, atenuación del nivel energético (*quenching*) del oxígeno singulete, bloqueo o atrapamiento (*scavenging, trapping*) de las reacciones mediadas por radicales libres, y fácilmente isomerización y oxidación. En la Figura 3 se resumen las propiedades físicas y químicas de los carotenoides; muchas de sus funciones son consecuencia de la capacidad para absorber la luz y, por tanto, producir color aunque se ha encontrado también que tienen una función importante como antioxidantes en los organismos fotosintéticos y en muchos no fotosintéticos aerobios, actuando en la desactivación de radicales libres (Sánchez, 1999).

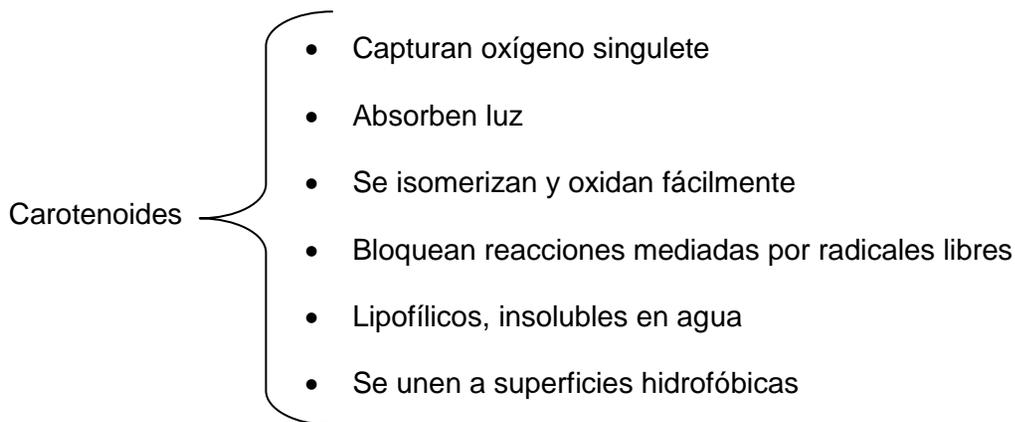


Figura 3. Algunas propiedades fisicoquímicas de los Carotenoides

Adicionalmente, los carotenoides actúan como atenuadores de los en estados excitados en las clorofilas, generados durante la fotosíntesis. Se supone que el gen se codifica para el fitoeno desaturasa, importante en la ruta biosintética de los carotenos, está regulado por retroalimentación a nivel de transcripción mediante la acumulación de productos finales de la vía de carotenogénesis (Rommel, 2001). Los carotenoides bicíclicos con anillos β y ϵ comunes en plantas y animales son precursores de varias xantofilas de las que la luteína es el ejemplo principal (Bartley y Col, 1995)

Debido a su naturaleza, los carotenoides son solubles en disolventes no polares, su grado de solubilidad depende de los grupos sustituyentes de la molécula ($-\text{OH}$, $-\text{C}=\text{O}$, etcétera), propiedad que se utiliza para los procesos de extracción y purificación de estos pigmentos. Los carotenos son muy solubles en éter de petróleo y hexano, mientras que las xantofilas son más solubles en metanol o etanol.

2.3.1.3. β -Caroteno

En años recientes se ha presentado un gran interés en el estudio de los carotenoides en las dietas de los rumiantes por su efecto antioxidante. Es por ello que muchas investigaciones se han enfocado a los análisis cualitativos y cuantitativos de estos pigmentos, aunque con frecuencia estos son no específicos y se refieren a “carotenos”, una mezcla de varias moléculas e isómeros. A pesar de la gran variedad de carotenoides en forrajes, no más de 10 son encontrados en la alimentación de rumiantes. Estos son: luteína, violaxantina, anteraxantina, zeaxantina, neoxantina, trans- β -caroteno (*all trans*), α -caroteno, 13-cis- β -caroteno. Los más abundantes son β -caroteno y luteína (Nozière, 2006).

La concentración de carotenoides en forrajes, en particular de β -caroteno, depende de la síntesis y la disminución en la concentración de los mismos (Tabla 1). La síntesis es dada en unidades de isopreno en plástidos y tiene lugar principalmente en las hojas (Armstrong y Hearst, 1996) en donde se presenta de 5 a 10 veces más carotenoides con respecto a los tallos (Solórzano, 1998). La disminución en la concentración ocurre rápidamente por la oxidación debido a la exposición a la luz y a la radiación solar. En general, la concentración de β -caroteno en las plantas disminuye con el grado de madurez y se oxida rápidamente después de ser cortadas. Es decir, los forrajes sometidos a cualquier proceso de conservación tienen un menor contenido de carotenoides que en fresco (Santamaria, 2003). La Tabla 1 muestra la concentración de carotenoides de algunos forrajes.

Tabla 1. Concentraciones de β -caroteno en diferentes forrajes (Santamaria, 2003)

Forraje	rango de concentración mg /kg
Alfalfa ensilada	0 – 117
Alfalfa heno	0.2 – 100
Hierba ensilada	5 – 365
Maíz ensilado	1 – 57
Paja(diferentes orígenes)	1 – 14
Kikuyo verde (<i>Pennisetum clandestinum</i>)	27 – 28
Trebol blanco verde (<i>Trifolium repens</i>)	91.2

Los forrajes y hortalizas verdes tienen niveles similares de β -caroteno (aproximadamente 300 mg/kg MS) en las etapas tempranas de crecimiento. Sin embargo, en la etapa de floración y en la madurez, las hortalizas verdes son más ricas en este compuesto que los forrajes (Scott, 1992). Se reporta que la etapa de crecimiento no afecta el nivel de β -caroteno en hortalizas verdes al mismo grado que se afecta en los forrajes (Scott, 1992; Menchu, 1996).

Kaiseraugust (2008) reportó que un pasto de buena calidad, o una cantidad suficiente de ensilado de hierba, garantizan el aporte necesario de β -caroteno en la ración (Figura 4). No obstante, las raciones para las vacas de alta producción de leche se basan en el sistema TMR (ración total mezclada) con una proporción relativamente alta de ensilado de maíz y solamente algunos animales reciben suficiente alimentación mediante pastoreo. Sin embargo, el contenido de β -caroteno en el ensilado de maíz no se tiene en cuenta (Figura 4).

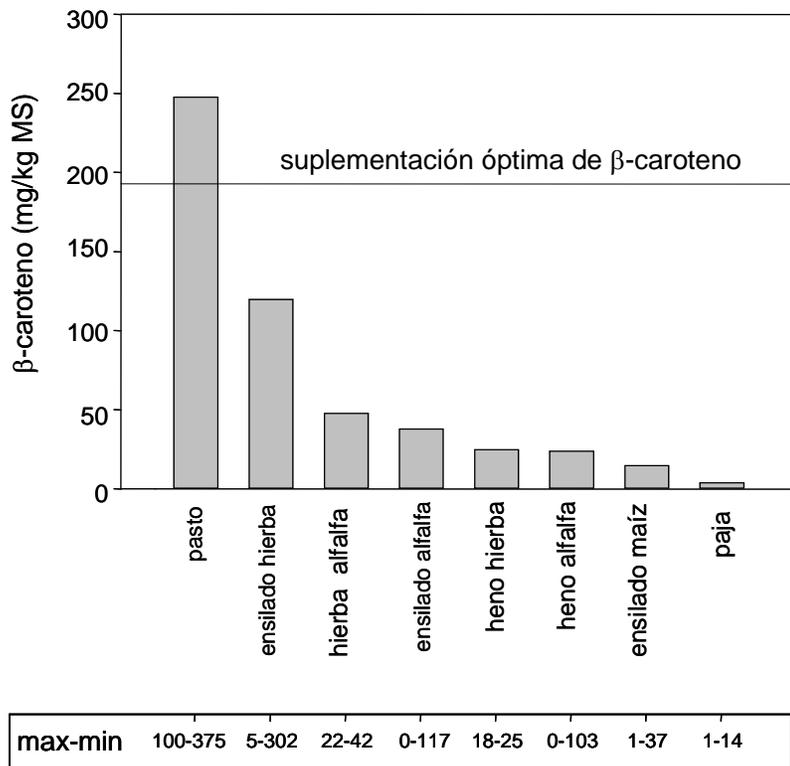


Figura 4. Contenido en β -caroteno de diferentes forrajes (DSM 1999-2005)

La capacidad de la hierba conservada para compensar la baja concentración de β -caroteno del ensilado de maíz en la ración base suele estar sobrevalorada. Los resultados de las investigaciones realizadas a lo largo de los años 1999-2004 revelan que el forraje presenta un porcentaje variable de β -caroteno, imposible de precisar de antemano (Nozière, 2006).

La disponibilidad de β -caroteno en la ración depende del tipo de forraje y de la forma de conservación. Las pérdidas de oxidación durante la cosecha, marchitamiento y ensilado repercuten de manera especialmente negativa en la concentración de β -caroteno en el forraje. En comparación con la materia fresca, las pérdidas de β -caroteno superan ligeramente el 50% y pueden aumentar si el almacenamiento tiene lugar en un silo abierto (Figura 5).

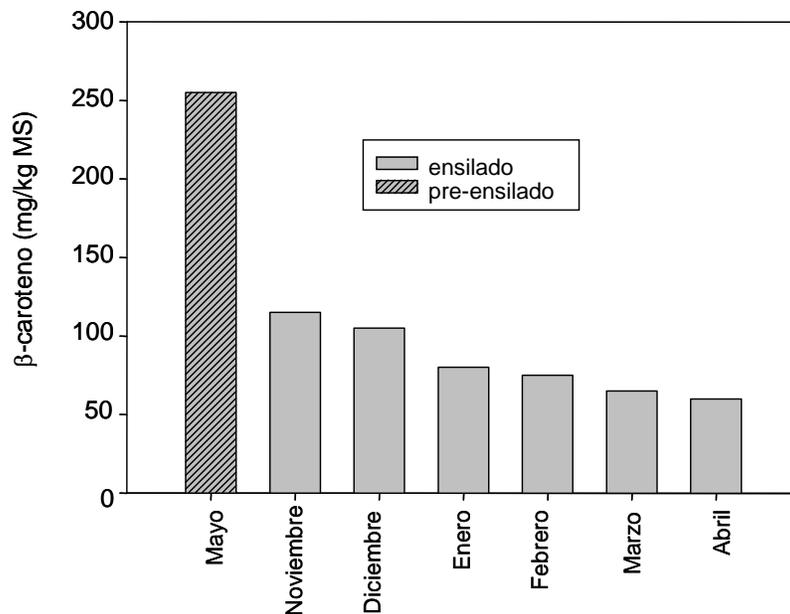


Figura 5. Efecto del almacenamiento de β -caroteno en ensilado de forraje (Manner, 2004)

2.3.2. Clorofilas

Es el pigmento más abundante en las plantas verdes y clave de la fotosíntesis, uno de los procesos anabólicos más importantes para la vida y fundamental para sintetizar los diferentes carbohidratos que se encuentran en la naturaleza (Pfander, 1992).

2.3.2.1 Estructuras

La clorofila es un dihidroporfirina formada por cuatro pirroles, y un anillo de ciclopentanona. Este núcleo es el cromóforo responsable de absorber en la región visible; es un compuesto metalorgánico con una estructura planar resonante conteniendo 10 dobles ligaduras, además de un núcleo de Mg y cadenas laterales de metilo, etilo, vinilo y ácido propiónico, esta última está esterificada con un alcohol de 20 átomos de carbono, el fitol (Guerrero-López y col., 2006). En la Tabla 2 se resumen las principales características estructurales de las clorofilas (Lee, 2002).

Tabla 2. Componentes estructurales de las clorofilas (Lee, 2002; Hendry, 2000)

Grupo	Descripción
Pirrol	Uno de los cuatro anillos componentes del núcleo
Porfina	Esqueleto de 4 pirroles unidos por un puente de metilo
Porfirina	Los cuatro anillos con puentes de metilo y sustituido por metilo, etilo o vinilo
Clorinas	Porfirinas deshidratadas
Forbina	Porfirina con adición de anillo C ₉ -C ₁₀
Forbido	La posición 7 esta esterificada con fitol y no contiene Mg
Fitol	Alcohol Isoprenoide de 20 átomos de carbono
Clorofila a	En posición 3 hay un metilo
Clorofila b	En posición 3 hay un formilo
Feofitina	Clorofilas sin Mg
Clorofilidas	Clorofilas sin fitol
Feoforbido	Clorofilas sin fitol ni Mg

Se ha documentado la existencia de clorofilas a, b, c, d y las bacterioclorofila; cada una con un espectro de absorción determinado con base en su estructura molecular. Los tipos más comunes son las clorofilas a y b. La clorofila a está presente en las plantas verdes en un 75% del total de clorofilas; la clorofila b, presente en menor proporción, transfiere la energía lumínica recibida a la clorofila a, la cual la convierte en energía química. La clorofila b difiere de la clorofila a por contener un grupo formilo que sustituye una de las cadenas metilo laterales, mientras que la clorofila a contiene un metilo en esta posición. La Figura 6 muestra la estructura del las clorofilas a y b.

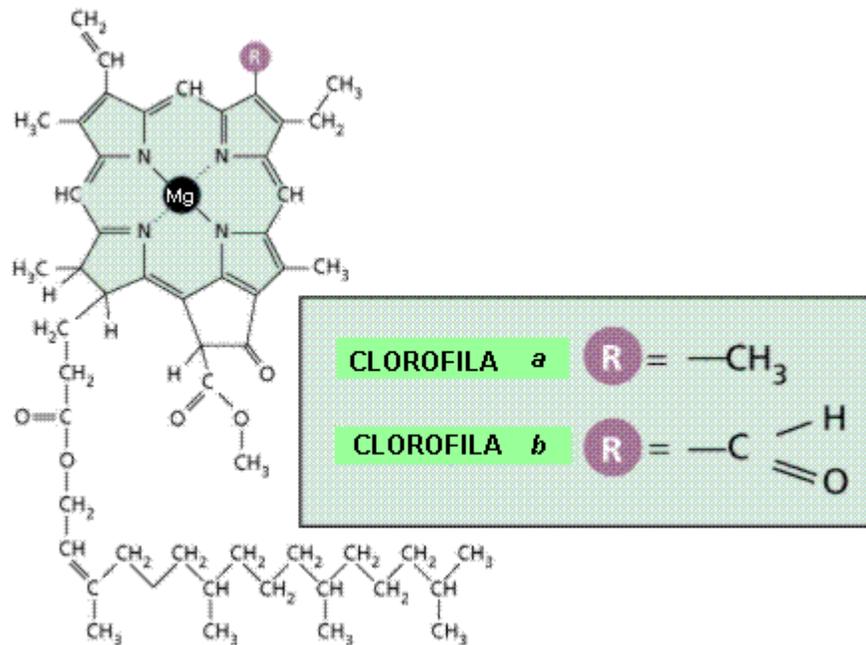


Figura 6. Estructura de las clorofilas a y b

La clorofila es insoluble en agua y en soluciones de sacarosa, pero soluble en alcohol, éter y álcalis. Se ha demostrado que las clorofilas están presentes en forma de suspensión coloidal en el jugo de la caña, de ahí que se puede separar fácilmente durante el proceso de producción de sucrosa, aunque ni las clorofilas ni sus productos de degradación están presentes en las melazas, debido posiblemente a que forman compuestos incoloros con iones férricos presentes (Lima, 2009).

2.3.2.2. Espectros de absorción

Las clorofilas producen dos máximos en el espectro de absorción en el intervalo visible, uno en la zona azul (400-500 nm) y otro en la roja (600-700 nm), lo que da como resultado la percepción del color complementario (verde, 500-600 nm) (Berset, 1983). Las clorofilas a y b tienen máximos a longitudes de onda ligeramente diferentes, pero ambas en las zonas azul y rojo (Figura 7).

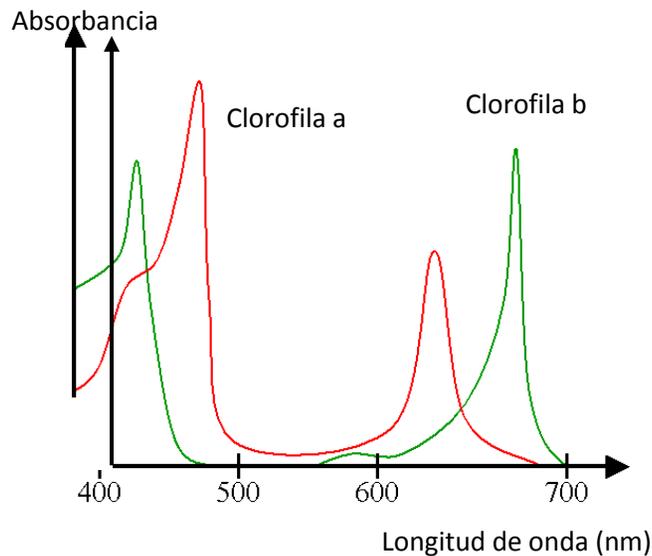


Figura 7. Espectros de absorción de las clorofilas a y b.

En plantas no verdes las clorofilas están acompañadas de otros pigmentos, principalmente carotenoides y ficobilinas, que imparten otros colores al material vegetal, tales como el amarillo dorado típico de los cromófitos, o el rojo púrpura de las algas rojas (Scheer, 1991). En la célula, sin embargo, el espectro es levemente distinto debido a los ligandos asociados al pigmento. La absorbancia máxima de la clorofila a *in vivo* es 684 nm al principio del proceso de verdecimiento de las plantas, posteriormente cambia a 673 nm. En cambio, la absorbancia máxima *in vivo* de la clorofila b es 650 nm (Vernon, 1966).

2.4. Digestión, absorción y metabolismo de β -caroteno en los rumiantes

Al ser precursor natural de la vitamina A, el aporte suficiente de β -caroteno al ganado lechero y productor de carne es muy importante. Además de su papel como provitamina, el β -caroteno influye de manera significativa, y posiblemente de forma independiente, en la capacidad reproductiva. De este modo, se ha observado una disminución de la intensidad del celo, retrasos en la ovulación y una menor tasa de fertilidad en vacas alimentadas con raciones deficientes de β -caroteno. Como podría ser deducido de la baja recuperación de carotenoides en la leche, la eficiencia de esta transferencia parece ser fuertemente limitada. Es probable que las diferentes rutas metabólicas de los carotenoides en la dieta, -por

ejemplo la digestión en el rumen, la absorción intestinal y el metabolismo en los tejidos- podría influir en la disponibilidad de los carotenoides a la glándula mamaria (Waghorn, 1992).

2.4.1. Digestión ruminal

El primer acontecimiento en el proceso digestivo de los rumiantes es la disminución en la concentración de la matriz del forraje que libera carotenoides al líquido ruminal (Mora y col., 1999). El grado de disminución en la concentración de carotenoides por acción de los microorganismos en el rumen permanece incierto, debido a la amplia gama de resultados; el más estudiado es el β -caroteno *in vitro* e *in vivo*. Mientras que algunos autores no reportaron cambios en la concentración de β -caroteno en el rumen (Dawson y Hemington, 1974; Cohen Fernández y col., 1976) otros encontraron 10 a 25% de disminución (Davison y Seo, 1963; Potkanski y col., 1974; Cohen Fernández y col., 1976; Mora y col., 1999) e incluso una desaparición de 40-55% (Rey y col., 1962). En un estudio *in vitro*, donde se utilizó forraje en líquido ruminal de oveja, se observó que los carotenoides no son afectados por la fermentación del rumen (Shorland y col., 1957). La forma de suplementar a los carotenoides podría explicar discrepancias entre estos experimentos, debido a que la disminución en la concentración fue más altas cuando los carotenoides se suministraron en forma purificada, en comparación a su suministro en forrajes (Cardinault, 2004).

Las dietas de rumiantes por lo general se complementan con vitamina A para una salud y productividad máxima. Sin embargo, el retinol suplementado es destruido por los microorganismos del rumen; la cantidad de concentrado en la dieta es un factor asociado con esta destrucción ruminal. Rodé y col. (1990) reportaron una pérdida de 80% de vitamina A, 70% de la dieta del ganado fue con concentrado; cuando las dietas fueron altas en forraje las pérdidas fueron sólo de 20%. Weiss y col. (1995), por su parte, demostraron que la forma de suplementar el retinol no tuvo ningún efecto en la destrucción de este compuesto, aunque el aumento de concentrado en la dieta resultó en una mayor pérdida de vitamina A en el rumen. Alosilla y col. (2007) concluyeron que la destrucción de la vitamina A se produce en el rumen con pérdidas de retinol hasta en 80%.

Van Soest (1994) señala que los carotenoides son hidrogenados por un mecanismo que incluye a las bacterias anaerobias presentes en el rumen; las dobles ligaduras en posición

trans son más resistentes a la hidrogenación que los compuestos insaturados no conjugados, y por tanto pasan al intestino delgado sin otra alteración estructural.

2.4.2. Movilización y absorción postruminal

Hasta donde se tiene conocimiento, los estudios sobre el paso de carotenoides por el intestino están exclusivamente basados en animales no rumiantes. En estas especies la cantidad y naturaleza de lípidos en la dieta influyen sobre la solubilidad de los carotenoides y, subsecuentemente, en la absorción en el intestino, debido a que los carotenoides se transportan en la fase lipídica. Debido a su polaridad, las xantofilas están localizadas en la superficie, tanto de un glóbulo de grasa de una emulsión aceite/agua, como de una micela en el duodeno. Esta ubicación superficial de las xantofilas en ambas estructuras (emulsión y micela) permite que su transferencia desde la emulsión hacia las micelas sea más alta (25-40%) que la observada para los carotenos α o β (12-18%), ya que estas últimas son moléculas poco polares (Van Vliet, 1996).

Los carotenoides son ingeridos en la dieta en su forma química libre, como ésteres o unidos a proteínas. La tasa de absorción de los β -carotenos provenientes de las plantas oscila entre 10 y 50%, pero hay una gran variación entre individuos. En el duodeno se incorporan a las micelas lipídicas junto con ésteres de retinilo, triglicéridos, fosfolípidos y ésteres de colesterol, todos estos compuestos son acometidos por enzimas proteolíticas, esterases del jugo pancreático y ácidos biliares (Masoro, 1968); a la vez los carotenoides libres se difunden por la capa glucoproteica de las células epiteliales del intestino. Se considera que, a dosis fisiológicas, la absorción de los carotenoides se realiza por difusión pasiva, aunque la cinética y transporte en el plasma es específica para cada carotenoide, debido en parte a su polaridad pero disminuyendo la cantidad absorbida si se suministran dosis elevadas en la ingesta (Parker, 1996).

Los carotenoides provitamínicos se convierten parcialmente en vitamina A en la mucosa intestinal; tanto estos como los no provitamínicos son incorporados a los quilomicrones y secretados a la linfa para su transporte al hígado (Inciso 2.5.6.). Dentro de las células de la mucosa, los β -carotenos se dividen en dos moléculas de retinal *all trans* (vitamina A) en doble enlace central. La enzima 15,15'-dioxigenasa cataliza esta ruptura por un mecanismo

de oxidación del β -caroteno. Es una enzima intestinal, los requerimientos vitamínicos de bovinos se satisfacen ampliamente por su acción en condiciones óptimas, sin que induzca hipervitaminosis (Olson, 1989). Mora y col. (1998) reportaron que esta enzima tiene de 4 a 5 veces mayor actividad en el intestino delgado de las cabras comparado con el de los bovinos.

La división asimétrica de la molécula de β -caroteno produce compuestos intermediarios con cadenas laterales heterogéneas. En los enterocitos, al igual que en otros tipos celulares, se ha descrito la presencia de enzimas que continúan el metabolismo del β -caroteno, como la retinol deshidrogenasa (RoIDH) que convierte el retinal a retinol, y la lecitina retinol acil transferasa (LRAT) formadora de ésteres de retinilo a partir de retinol. Los compuestos sintetizados también son transportados por vía linfática por los quilomicrones. Los requerimientos particulares de células específicas ocasionan estas conversiones de la vitamina A (Paik y col., 2004). El β -caroteno también interfiere en los procesos oxidativos tan pronto ingresa a las células de la mucosa (Biesalski, 2007).

Aproximadamente 75% del retinol se esterifica con ácidos grasos de cadena larga, generalmente palmitato o estearato, facilitando de esta forma la movilización de carotenos y el retinol a través del epitelio intestinal. Los ésteres de retinol se incorpora a los quilomicrones y llega al hígado a través de la linfa (Incisio 2.5.6.) (Saari, 1977). Al degradarse los quilomicrones por acción de la lipoproteinlipasa (LPL) endotelial, las células del endotelio absorben también a los carotenos. Las fracciones no absorbidas se transportan hacia el hígado, donde el β -caroteno también se transforma en vitamina A. El exceso de β -caroteno se incorpora a las lipoproteínas de baja densidad (LDL y VLDL), donde adquiere una forma disponible por los tejidos extra hepáticos. Los metabolitos polares de la vitamina A, como el ácido retinoico, pueden excretarse de las células de la mucosa en forma directa a través de la circulación sanguínea portal (Biesalski, 2007).

2.4.3. Factores limitantes de la absorción de los carotenoides

La estructura molecular de los carotenoides sin actividad provitamínica A no se modifica al ser absorbidos, aunque es probable que exista un metabolismo postabsorción; hay poca información en humanos. Se han identificado metabolitos de la luteína y el licopeno en el

suero debido a modificaciones oxidativas en sujetos, tanto en condiciones dietéticas habituales como después de la ingestión oral de extractos de ambos compuestos (Khachik y col., 1995), algunos de los cuales presentan actividad anticarcinógena *in vitro* (King y col., 1997).

La conversión de los carotenos a retinol está limitada por su tasa de absorción, actividad enzimática, control homeostático y concentración del retinol en la sangre. Por lo tanto, una ingesta excesiva de carotenoides no provoca intoxicación vitamínica A (Olson, 1994). Olmedilla y col. (2001) citan distintos factores que afectan tanto a la absorción como a su conversión a retinol de los carotenoides de la dieta. En relación con la presencia de los carotenoides en el plasma, la eficacia de absorción a partir de fuentes dietéticas, y en ausencia de parásitos intestinales, enfermedades o desórdenes metabólicos digestivos, está determinada por: a) la eficacia de la liberación a partir del sistema matriz-alimento; b) la presencia de suficiente contenido lipídico (triglicéridos) para solubilizar el carotenoide liberado y estimular la síntesis de quilomicrones (Inciso 2.5.6); c) la presencia de factores que interfieran en el lumen intestinal, como la fibra vegetal, el hierro, otros antioxidantes, etcétera; y d) la proporción de conversión de carotenoides provitamínicos A en retinol en la mucosa (Parker, 1997; Castenmiller y West, 1998). Entrala y Gil (2001) mencionan que las grasas, las proteínas, la vitamina E y el zinc en la dieta favorecen la absorción y utilización de los carotenoides y la vitamina A. Por lo tanto, la deficiencia de estos nutrientes en la dieta habitual ejerce un efecto dañino sobre la vitamina A, ocurriendo los siguientes eventos:

- La deficiencia proteínica tiene como consecuencia directa una marcada reducción en la capacidad de la enzima caroteno dioxigenasa de la mucosa intestinal sobre la síntesis de RBP y de prealbúmina; también se alteran las diferentes enzimas lipolíticas y proteolíticas del intestino y el páncreas. Esta situación provoca un defecto en la hidrólisis de carotenoides y esterios de retinol, afectándose su mecanismo de absorción y transporte. Grownowska-Senger y Wolf (1970) reportaron que la actividad de la 15,15'-dioxigenasa se deprime en aproximadamente 50% con consumos de proteína muy bajos (5%).
- La deficiencia de zinc provoca un descenso en la síntesis hepática de RBP y, en consecuencia, menores concentraciones plasmáticas de vitamina A.

- La vitamina E, en condiciones normales, protege a los carotenoides y a la vitamina A de la oxidación durante los procesos de absorción. Al mismo tiempo, previene el agotamiento de las reservas hepáticas de esta vitamina. El déficit de vitamina E en la dieta tiene consecuencias negativas sobre la vitamina A.
- Las infecciones causadas por parásitos, ácaros, etcétera, alteran los mecanismos de absorción y reserva de la vitamina A.
- Los niveles bajos de grasa en la dieta reducen la capacidad de absorción de β -caroteno en el intestino, ya que la grasa provee un medio hidrofóbico para solubilizar a los carotenoides, además que estimula la liberación de sales biliares (Furr y Clark, 1997).

2.4.4. Almacenamiento y distribución en los tejidos

La mayor parte del β -caroteno y los retinoides en los quilomicrones son transportados al hígado (Inciso 2.5.6.), aunque cerca de 25% de estos compuestos pueden continuar su circulación por vía extrahepática (Goodman y Huang, 1965). El β -caroteno es liberado de los quilomicrones en el hígado, donde reacciona con citoquinas, dentro de los hepatocitos, siendo éste el segundo sitio en donde se forma retinol a partir de los carotenoides de la dieta, después del duodeno (Goodman y Huang, 1965).

En humanos, cabras y ovinos, los carotenos son transportados en la sangre; se encuentran fundamentalmente unidos a las lipoproteínas de baja densidad (LDL) mientras que las xantofilas se encuentran más uniformemente distribuidas entre lipoproteínas de alta (HDL) y baja densidad (LDL) (Ashes y col., 1984; Yang y col., 1992; Parker, 1996). En bovinos y hurones los carotenos están asociados a lipoproteínas de alta densidad (HDL) (Pollack y col., 1994). En humanos con una nutrición adecuada, los carotenoides se distribuyen principalmente en tejido adiposo (80-85%), hígado (8-12%) y músculo (2- 3%) y en menor concentración en otros tejidos (Bendich y Olson, 1989; Kaplan y col., 1990; Stahl y col., 1992b; Schmitz y col., 1991). Se ha reportado la presencia de β -caroteno y luteína en el cuerpo lúteo de bovinos, en el tejido adiposo, en las glándulas adrenales, en la piel, el riñón, el pulmón, la hipófisis, el músculo, el bazo, el estómago, el colon, la vejiga, el cerebro y los ojos (Furr y Clark, 1997). El depósito de β -caroteno en el tejido adiposo de bovinos

representa de 85 a 90% del color (Knight y col., 1993; Strachan y col., 1993; Yang y col., 1993). Mora y col. (1998) concluyeron que los tejidos hepático y adiposo poseen una capacidad limitada de almacenamiento de retinol. La depositación de β -caroteno en el tejido adiposo subcutáneo de los bovinos se incrementa en función del contenido de β -caroteno en la dieta. Los bovinos tienen concentraciones de β -caroteno en el plasma, el hígado y el tejido adiposo superiores a las encontradas en caprinos (Yang y col., 1992). No existe evidencia de que se produzca absorción y circulación de β -caroteno en ratas, cerdos, pollos, cuyos y conejos, debido a que estas especies presentan una conversión más eficiente de β -caroteno a vitamina A (Ribaya, 1989).

2.4.5. Eliminación

Existen pocos estudios respecto a las vías y cinética de eliminación de carotenoides en el hombre. Estos compuestos no parecen ser eliminados en orina (Bowen y col., 1993), pero son eliminados, sin modificar, en la bilis tanto en condiciones tanto normales como patológicas (Leoy y col., 1995). Asimismo, todos los carotenoides descritos en el suero, incluyendo posibles metabolitos e isómeros, se han caracterizado también en la leche materna (Khachick y col., 1997). El retinol se convierte a retinolfosfato, metabolito que interviene en la síntesis de glucoproteínas; su posible forma de eliminación es a través de una conjugación con UDP-glucurónico y excreción por vía biliar; o por conversión irreversible en ácido retinoico. Este y otros derivados constituyen la principal forma de eliminación de la vitamina A, tanto por la orina como por vía biliar (Entrala y Gil, 2001).

2.4.6. Metabolismo de la vitamina A

Tanto el retinol como el β -caroteno son absorbidos por los enterocitos de la mucosa intestinal donde el β -caroteno es transformado enzimáticamente a retinal, molécula que es posteriormente es reducida a retinol. En el interior de los enterocitos el retinol es esterificado, uniéndose en esta forma a los quilomicrones (Inciso 2.5.6). Estos agregados son transportados por el sistema linfático; una vez en la sangre se degradan produciendo remanentes de quilomicrones que son procesados en el hígado, donde los ésteres de retinol se almacenan. Una vez en el hígado la hidrólisis de los ésteres produce retinol, que se une a proteínas de unión (*retinol binding proteins*, RBP). Estas proteínas, una vez liberadas en la

sangre, se combinan con transtirretina formando un complejo ternario que transporta al retinol hasta los tejidos blancos. El retinol entra en la mayoría de los tejidos libre de RBP, en el interior de las células se une a proteínas celulares de unión (*cellular retinol binding proteins*, CRBP) las cuales modulan la acumulación intracelular del retinol (Nys, 2000).

2.4.7. Conversion de β -caroteno a vitamina A

Olmedilla y col. (2001) mencionan la existencia de dos vías de conversión de β -caroteno a retinol: 1) escisión central en el enlace 15-15' del β -caroteno; y 2) escisión excéntrica en algún otro enlace y posterior acortamiento de la cadena hasta formar retinol. En teoría, la escisión central daría lugar a 2 moles de retinal por mol de β -caroteno consumido, mientras que tras la escisión aleatoria se obtienen entre 1 y 2 moles de retinal por mol de β -caroteno (Olson y Hayaishi, 1965; Goodman y col., 1966). La rotura excéntrica de β -caroteno puede generar otros productos de oxidación como β -apo-13'-carotenona, β -apo-8'-carotenal y otros β -apo-carotenales (10', 12', 14') identificados en homogenizados de tejidos (Tang y col., 1991; Wang y col., 1991; Wyss y col., 2000).

2.4.8. Funciones de β -caroteno en bovinos

Se han reportado varias funciones del β -caroteno, además de ser precursor de la vitamina A. Daniel y col. (1991) observaron que la suplementación de β -caroteno estimula la proliferación de linfocitos durante el parto y aumenta la actividad bactericida de los leucocitos de la leche contra *Staphylococcus aureus*. DiMascio y col. (1991) y Zamora y col. (1991) determinaron su actividad como antioxidante en el atrapamiento de radicales libres, así como un aumento de la actividad de los macrófagos (Tjoelker y col., 1990; Chel, 1993). Lotthammer (1976), Folman y col. (1979) y Rakes y col. (1985) estudiaron los efectos positivos del β -caroteno sobre la fertilidad; su suplementación durante el periodo de "secado" disminuyó la incidencia de mastitis (Chef y Jonson, 1985; Dalquist y Chw, 1985). Se observó también la disminución en la incidencia de retención de placenta (Chef y Walter, 1991; Michal y col., 1994). El crecimiento y desarrollo folicular, la ovulación y el mantenimiento de la gestación requieren grandes cantidades de vitamina A. Aún cuando los aportes de esta vitamina sean elevados, existe dificultad en rebasar la barrera sanguínea hacia el folículo. Sin embargo, el β -caroteno es capaz de penetrar al fluido folicular. La deficiencia de β -

caroteno puede provocar retrasos en la ovulación aumentando así la incidencia de quistes foliculares (Lotthammer y col., 1976). Las recomendaciones de suplementación con β -caroteno en vacas son de 300 a 500 mg/animal/día, de 2 a 3 semanas antes del parto hasta la confirmación de preñez. En terneros se administra 100 mg/animal/día durante 2 a 3 semanas tras el periodo de toma de calostro (Santamaría, 2003).

2.4.9. Efectos secundarios del suministro de β -caroteno

Pese a los beneficios reportados en el suministro de β -caroteno en la dieta, algunos autores recomiendan precauciones. El β -caroteno sintético se asocia con un mayor riesgo de desarrollar cáncer de pulmón en los fumadores; mientras no se disponga de más información, los fumadores deben evitar todo tipo de suplementos con este compuesto (Graham, 2000). Aunque el β -caroteno no produce efectos secundarios, una ingesta excesiva (superior a 100,000 UI o 60 mg/día) puede promover que la piel adquiera una tonalidad amarillo anaranjada, aunque esto no indique algún efecto nocivo (Entrala y Gil, 2001). Una ingesta prolongada de β -caroteno por humanos debe de acompañarse con un suplemento de vitamina E, ya que el β -caroteno puede reducir los niveles de esta vitamina (Seal y Parker, 1996).

2.5. Colesterol

2.5.1. Estructura

El colesterol (3-hidroxi-5,6 colesteno) se considera como un esteroide, lo caracteriza un anillo de fenantreno fusionando a un ciclopentano para dar como resultado un anillo perhidrociclopentahidrofentreno de cuatro anillos (Figura 8). El colesterol también se clasifica como un lípido; contiene 27 carbonos, hidroxilado en posición 3 con una doble ligadura en la posición 5-6. Se encuentra ampliamente distribuido en todas las células del organismo, pero en especial en las del tejido nervioso (Murray, 1986).

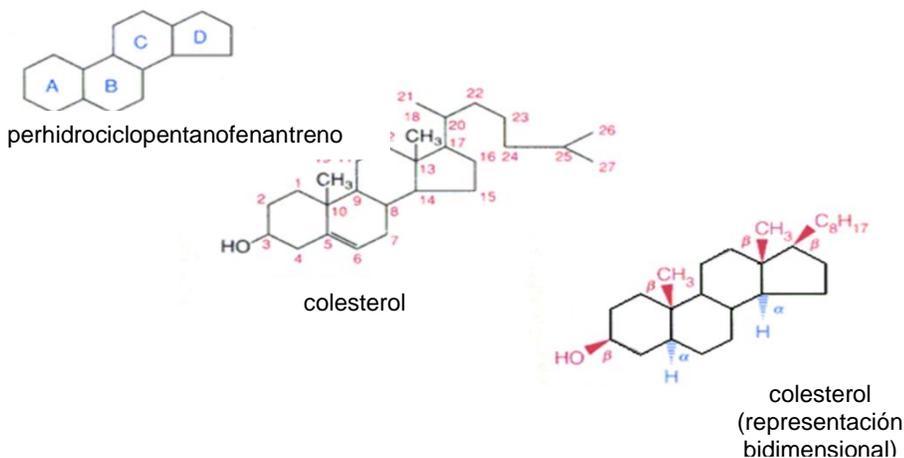


Figura 8. Estructura del colesterol

El colesterol forma parte de las membranas plasmáticas de las células eucarióticas, siendo un componente esencial para su estabilidad estructural y funcional. Es el precursor de otros esteroides que cumplen importantes funciones fisiológicas, tales como ácidos biliares, hormonas esteroideas, vitamina D, etcétera. Sin embargo, el aumento de los niveles de colesterol en el plasma es causa de morbilidad y de mortalidad por enfermedades cardiovasculares. El depósito de colesterol en la pared arterial es el responsable de la formación de las placas de ateroma (Garrido y Teijon, 2006). Los organismos superiores sintetizan fácilmente colesterol; se sintetizan diariamente un aproximado de 1 g, en tanto que la dieta promedio suministra solo alrededor de 0.30 g/día (Choppin, 1985).

2.5.2. Biosíntesis

Se lleva a cabo en todos los tejidos, pero es mucho más eficiente en el hígado y en órganos productores de hormonas esteroides como la corteza de las glándulas suprarrenales y las gónadas. El colesterol es sintetizado por enzimas del retículo endoplásmico liso y del citoplasma soluble. Las principales materias primas necesarias para la síntesis de colesterol son:

- a) Acetil CoA, cuyos grupos acetilos proveen todos los carbonos del colesterol
- b) ATP, como fuente de energía

c) NADPH.H+ como proveedor de los equivalentes de reducción necesarios para el proceso de síntesis.

La síntesis de colesterol se divide en:

- I. Síntesis de mevalonato
- II. Conversión de mevalonato en unidades activas de isopreno.
- III. Formación de escualeno por condensación de unidades de isopreno activo.
- IV. Ciclización de escualeno y transformación en colesterol.

I. Síntesis de mevalonato.

Las primeras reacciones de la síntesis de colesterol son similares a las reacciones que conducen a la formación de cuerpos cetónicos. Dos moléculas de acetil CoA reaccionan para formar acetoacetil CoA en una reacción catalizada por beta-ceto-tiolasa; el acetoacetil CoA se condensa con otra molécula de acetil CoA para formar beta-hidroximetil glutaril CoA (HMGCoA), en una reacción catalizada por la HMGCoA sintetasa (enzima citoplasmática con actividad similar a la enzima mitocondrial que participa en la cetogénesis). En este punto, las reacciones de la síntesis de colesterol y de cuerpos cetónicos divergen, mientras en la cetogénesis la HMGCoA (hidroximetilglutaril CoA) es escindida. Durante la formación de colesterol la HMGCoA es reducida por la enzima HMGCoA reductasa, una enzima localizada en el retículo endoplásmico liso, pero con el sitio activo orientado hacia el citosol. Esta enzima utiliza NADPH.H+ como agente reductor, y es clave en el control fisiológico de la síntesis de colesterol; además, constituye la clave en el control farmacológico de la síntesis. Las drogas estatinas actúan inhibiendo la acción de esta enzima y provocan disminución en la síntesis de colesterol. Como resultado de esta reacción se obtiene ácido mevalónico (mevalonato a pH fisiológico). La siguiente etapa en la síntesis de colesterol consiste en la conversión del ácido mevalónico obtenido a unidades de isopreno activo.

II. Conversión de mevalonato en unidades activas de isopreno.

El colesterol es un isoprenoide; este grupo incluye los terpenos y los esteroides, derivados del isopreno, o metil butadieno.

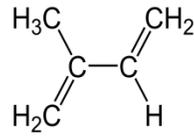


Figura 9. Estructura del isopreno

Sin embargo, para que las unidades isopreno en el colesterol sean activas metabólicamente, es necesario que se encuentren fosforiladas. Ocurren tres fosforilaciones consecutivas catalizadas por enzimas kinasas empleando ATP, seguidas por una descarboxilación y una defosforilación, que conducen a la formación de isopentenil pirofosfato y su isómero, dimetilalil pirofosfato, formas activas de isopreno (Figura 10).

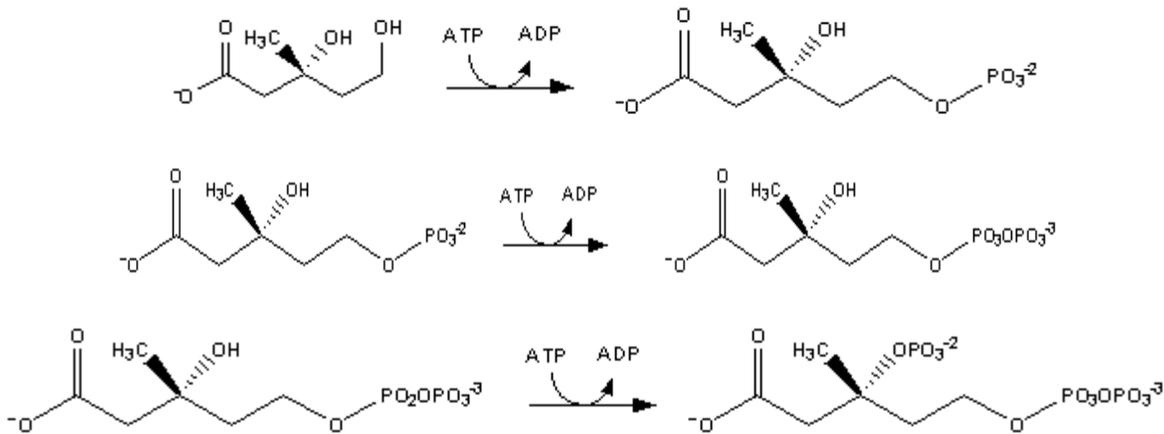


Figura 10. Formación de isopentenil pirofosfato y dimetilalil pirofosfato.

Después de estas fosforilaciones, ocurre una descarboxilación y la formación de isopentenil pirofosfato, una de las unidades isoprenoides activas (Figura 11), el cual se isomeriza a dimetilalil pirofosfato, también activo.

:

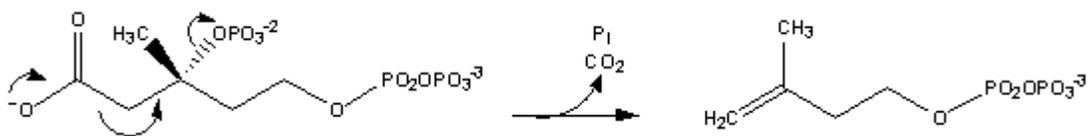


Figura 11. Formación de isopentenil pirofosfato

III. Formación de escualeno por condensación de unidades de isopreno activas.

Las moléculas de isopreno activo son polimerizadas por distintas reacciones enzimáticas: dos moléculas de isopreno activo forman geranyl pirofosfato de 10 átomos de carbono, el cual reacciona con otra molécula de isopreno activo para formar farnesil pirofosfato (15 carbonos); dos moléculas de farnesil pirofosfato formaran un escualeno (30 carbonos). La enzima escualeno-sintetasa cataliza esta reacción utilizando NADPH como cofactor.

IV. Ciclización de escualeno y transformación en colesterol.

La enzima oxidoescualeno-ciclasa (o lanosterol-sintetasa) cataliza esta última transformación. El lanosterol, además del sistema de anillos que constituye el esterano contiene también hidroxilo en el carbono 3, característico de los esteroides. La introducción de este grupo hidroxilo durante la transformación de escualeno a lanosterol necesita de NADPH como cofactor. La secuencia de reacciones desde las unidades isoprenoides hasta el lanosterol se describe en la Figura 12.

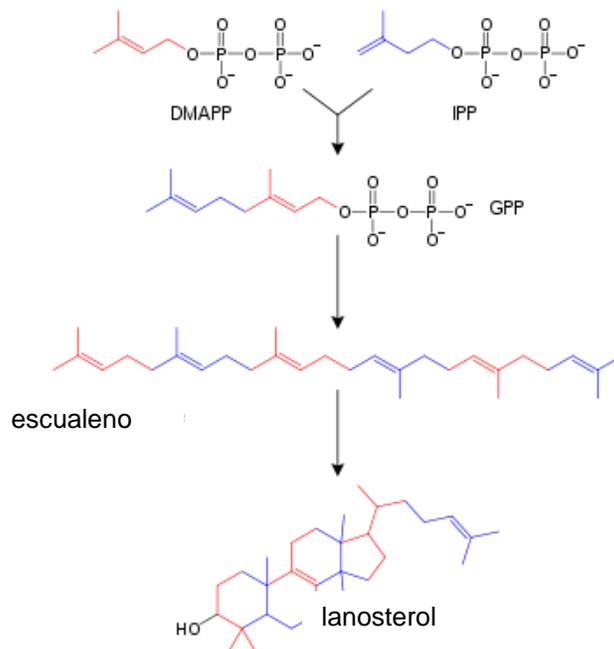


Figura 12. Formación de lanosterol a partir de isoprenos activos

Finalmente, el lanosterol, a través de reacciones de eliminación y saturación, entre otras, forma al colesterol (Figura 13).

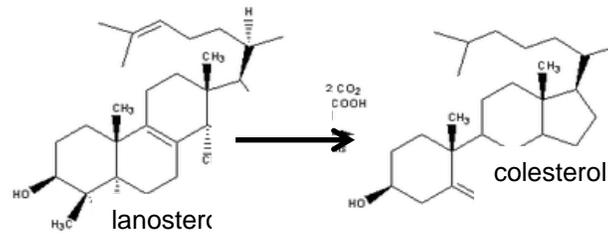


Figura 13. Transformación de lanosterol a colesterol

2.5.3. Regulación de la biosíntesis

El órgano donde se regula la síntesis del colesterol es el hígado, aunque los niveles en el plasma pueden modificarse por efecto de la dieta. La síntesis del colesterol se regula por cambios en la actividad de dos proteínas: el receptor de membrana para LDL y la HMG-CoA reductasa. La regulación de la síntesis del colesterol se ejerce al inicio de la ruta metabólica. En ratas privadas de alimento la actividad de HMG-CoA reductasa disminuye notablemente, lo que explicaría la reducción de la síntesis del colesterol durante el ayuno. Se supone que existe un mecanismo de retroacción por el cual la HMG-CoA reductasa es inhibida en el hígado por el colesterol (García,1992). Sin embargo, y dado que no se ha demostrado una inhibición directa de la enzima por el colesterol, es posible que éste o un metabolito como el colesterol oxigenado, puede actuar por represión de la síntesis de reductasa nueva o por inducción de síntesis de las enzimas que degradan a la reductasa existente.

La síntesis de colesterol es inhibida también por el efecto del complejo de LDL (lipoproteína de baja densidad)-colesterol captado por medio de los receptores de LDL (receptores apo-B-100). Tanto en la síntesis del colesterol como en la actividad de la reductasa se manifiesta una variación diurna. La administración de insulina o de hormona tiroidea incrementa la actividad de HMG-CoA reductasa, en tanto que la de glucagón o glucocorticoides la reduce. La enzima existe en las dos formas, activa e inactiva, que pueden ser modificadas reversiblemente por mecanismos de fosforilación-desfosforilación, algunos de los cuales pueden depender de AMPc, y por tanto ser sensibles al glucagón (Molina, 1991).

El mecanismo regulador principal es la detección del colesterol intracelular en el retículo endoplásmico por medio de la proteína SREBP (*Sterol Regulatory Element Binding Protein*) 1 y 2, proteínas que se unen a elementos reguladores de esteroides. En presencia de colesterol, la SREBP está unida a otras dos proteínas: SCAP (*SREBP-Cleavage Activating Protein*) e Insig-1. Cuando disminuye la concentración del colesterol en el retículo endoplásmico, Insig-1 se disocia del complejo SREBP-SCAP, permitiendo que el complejo migre al aparato de Golgi, donde SREBP es escindido secuencialmente por S1P y S2P (proteasas del sitio 1 y 2, respectivamente). El SREBP escindido migra al núcleo celular donde actúa como factor de transcripción uniéndose al SRE (*Sterol Regulatory Element*) de una serie de genes para regular su transcripción. El SRE es una secuencia de 10 pares de bases (5'-ATCACCCAC-3') localizada en la región 5' no transcrita de algunos genes. Entre los regulados por el sistema Insig-SCAP-SREBP destacan los genes del receptor de lipoproteínas de baja densidad (LDL) y la hidroximetilglutaril CoA-reductasa (HMG-CoA-reductasa), la enzima limitante en la vía biosintética del colesterol (Lasunción, 2006).

El conocimiento de estos mecanismos ha permitido abordar la fisiopatología de diversas enfermedades humanas como la enfermedad vascular aterosclerótica, causa del infarto agudo al miocardio y los accidentes cerebrovasculares (Valenzuela y Morgado, 2006).

2.5.4. Transporte y excreción

El colesterol, junto con los triglicéridos y los fosfolípidos, son compuestos hidrofóbicos que se transportan en los líquidos corporales unido a proteínas, en forma de agregados macromoleculares o lipoproteínas. El colesterol hepático de origen exógeno, procedente de la dieta, llega hasta el hepatocito vehiculado en los residuos de quilomicrones. El colesterol endógeno, por su parte, es sintetizado en la célula hepática a partir del acetil-CoA procedente de azúcares, ácidos grasos y aminoácidos. Una parte del colesterol endógeno deja al hígado en forma de LDL para regresar formando parte de diferentes lipoproteínas y remanentes de las mismas; su incorporación está mediada por receptores específicos. El colesterol de los tejidos llega al hígado a través de lipoproteínas (LDL, IDL y HDL). Finalmente, el exceso de colesterol hepático actúa como mecanismo de autorregulación y es excretado en la bilis como tal o en forma de ácidos biliares (Figura 14) (Garrido y Teijón, 2006).

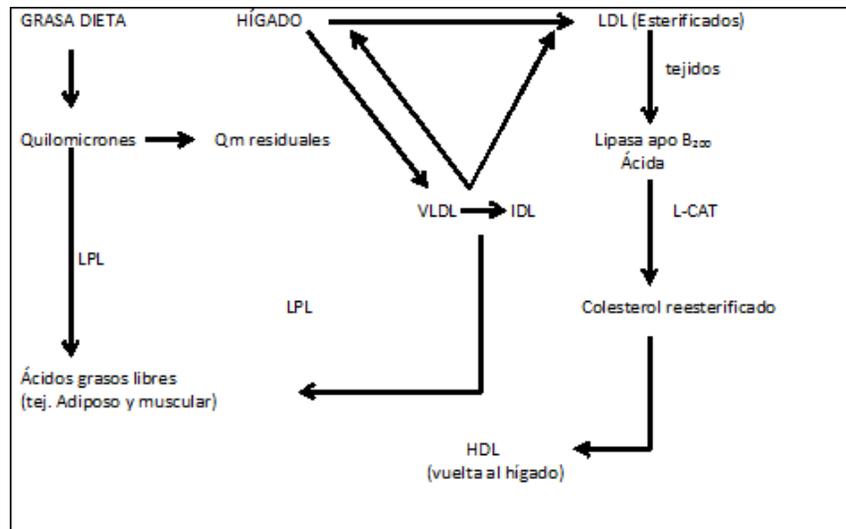


Figura 14. Transporte y conversión de las grasas

2.5.5. Funciones del colesterol

- Estructural. El colesterol es un componente fundamental de las membranas plasmáticas de los animales. Aunque este compuesto se encuentra en pequeña cantidad en las membranas celulares, en la membrana citoplasmática está en una proporción molar 1:1 con relación a los fosfolípidos, regulando sus propiedades físicoquímicas, en particular la fluidez. Sin embargo, el colesterol se encuentra en muy baja proporción en las membranas subcelulares.
- Precursor de vitamina D. Ésta se sintetiza a partir del colesterol, más que una vitamina, es una hormona por las funciones que desempeña en el metabolismo del calcio.
- Precursor de las hormonas sexuales. A partir del colesterol se sintetiza la progesterona, los estrógenos y la testosterona.
- Precursor de las hormonas corticoides, como el cortisol y la aldosterona.
- Precursor de las sales biliares. El hígado también excreta colesterol a través de la bilis y a veces forma cálculos en la vía biliar, lo que se denomina litiasis biliar (Fernández, 1994).

2.5.6. Metabolismo de quilomicrones

Los quilomicrones se sintetizan en las células de la mucosa intestinal a partir de los lípidos de la dieta. Durante la síntesis de proteínas, la apo B-48 en el retículo por acción de la MTP, incorporan triglicéridos a la proteína así como otros lípidos y apolipoproteínas A para constituir un quilomacrón, que es dirigido hacia la membrana basolateral y segregado por exocitosis. La síntesis y secreción de quilomicrones están directamente ligadas a la tasa de absorción de lípidos de la dieta. Cuando la dieta carece de grasas se sintetizan quilomicrones pequeños (de menos de 100 nm) a una tasa de 4 g de triglicéridos por día. Por el contrario, si la dieta es rica en grasas esta tasa aumenta hasta 75 veces a costa de un incremento del número y tamaño de quilomicrones sintetizados que puede llegar a ser hasta 500 nm. A través de la linfa los quilomicrones alcanzan la circulación sanguínea a la altura del conducto torácico. Una vez en la sangre en esta etapa nacientes adquieren apolipoproteínas C y E de las HDL en un mecanismo de intercambio por fosfolípidos, y se desprenden de la apo A-IV. La presencia de apo C-II permite que los quilomicrones maduros puedan ser sustrato de la LPL, que hidroliza sus triglicéridos y facilita el suministro de ácidos grasos a los tejidos subyacentes. Al perder triglicéridos localizados en su interior, el quilomacrón se distorsiona, lo cual es compensado por la pérdida de componentes de superficie (fosfolípidos y apolipoproteínas) que se añaden a las HDL. Como resultado final, se forma un quilomacrón residual de menor tamaño, parcialmente enriquecido con ésteres de colesterol al haber perdido triglicéridos, pero conservando la apo B-48 y parte de otras apolipoproteínas originalmente presentes. La presencia de apo E permite que los quilomicrones sean reconocidos por los receptores hepáticos LRP que median su captación por endocitosis y, con ello, su eliminación final del plasma. Este último proceso está facilitado por la acción de la lipasa hepática endotelial e inhibido por un exceso de apolipoproteínas C en la partícula. El ciclo de producción y eliminación de un quilomacrón en el plasma se prolonga en el orden de minutos (el recambio medio de los triglicéridos en los quilomicrones es de 7 min). En condiciones fisiológicas normales sólo se detectan estas lipoproteínas durante el período de absorción (Ginsber, 1998).

Si hay deficiencia de LPL y apo C-II, se acumulan los quilomicrones en el plasma, desarrollándose la hiperlipidemia tipo I o hiperquilomicronemia, con elevación en la concentración plasmática de triglicéridos y disminución de las concentraciones de LDL y de

HDL. En la deficiencia de apo E, o en homocigosis de apo E2, así como en la deficiencia de HL, se acumulan quilomicrones residuales; esto permite concluir la importancia de la apolipoproteína y de la lipasa hepática en este metabolismo. Contrariamente, en el caso de deficiencia de receptor LDL no se altera la cantidad de quilomicrones residuales, lo que indica la importancia del papel de LRP ese proceso. Los quilomicrones, por tanto, transportan los ácidos grasos de la dieta a los tejidos periféricos y el colesterol al hígado, junto con la vitamina E y la vitamina A; esta última en forma de acetato de retinol, en un proceso tienen un papel principal la LPL y el receptor LRP y por otro las apolipoproteínas B-48, C-II y E (Diamante y col., 2003).

2.5.7. El colesterol en la reproducción de bovinos

El colesterol y los fosfolípidos afectan la estabilidad de membrana y tienen influencia en la capacidad fertilizante de los espermatozoides. Una mayor relación colesterol/fosfolípidos en el fluido del istmo, estabiliza la membrana plasmática del espermatozoide inhibiendo la reacción acrosómica; este hecho apoya el concepto de que el istmo funciona como un sitio de reserva de espermatozoides. La menor relación colesterol/fosfolípidos hallada en el fluido ampular desestabiliza la membrana del espermatozoide promoviendo su capacitación y reacción acrosómica en el momento y lugar adecuado del ciclo estral para una fertilización adecuada. La Tabla 3 indica los concentración de colesterol en algunas especies (Bush,1982).

Tabla 3. Rango de concentración de colesterol en algunas especies (mg/dL) (Bush,1982)

Perro	Gato	Caballo	Vaca	Cerdo	Oveja	Cabra
115.6- 253.7	71.3- 161.2	70.9- 141.9	62.1- 192.5	81.4- 134.3	44.1- 90.1	64.6- 136.4

En la mayoría de los animales se observan niveles elevados de colesterol después de alimentarse con grasa o en casos de disfunción hepática, incluyendo la obstrucción del conducto biliar. La destrucción de las células hepáticas tiene como consecuencia una disminución en la actividad metabólica del hígado; es más marcada la disminución en la

concentración del colesterol durante la síntesis, por lo que los niveles en sangre aumentan. En casos de hipotiroidismo, los niveles de colesterol aumentan debido a que la carencia de hormonas tiroideas reduce principalmente la actividad metabólica de las células hepáticas (Pirich, 2000).

Al suplementar grasa en la dieta aumenta el aporte de energía, esto puede reducir el balance energético negativo y tiene un efecto positivo sobre la actividad reproductiva. La respuesta positiva se refleja como mayor concentración plasmática de progesterona, mayor tamaño del folículo ovulatorio, mayor número de folículos ováricos, control sobre la regresión del cuerpo lúteo, y mejora en los índices de concepción y preñez (Mc Namara, 1987). Lammoglia y col. (1996) llevaron a cabo un estudio en donde se alimentaron 37 vacas con dietas a tres concentraciones de ácidos grasos (3.74, 5.20 y 6.55%); el colesterol medido postparto fue más alto en los animales que recibieron la dieta con una concentración alta de ácidos grasos con respecto de las vacas que recibieron las otras dietas. Se requiere progesterona para el establecimiento y el mantenimiento de la preñez, y el cuerpo lúteo es su principal fuente. El colesterol plasmático, precursor de la síntesis de progesterona, aumenta durante la lactación temprana cuando se suplementa con grasa, pudiendo ser suficiente para asegurar la concepción (Childs y col., 2008). En conclusión, la grasa de la dieta influye en la concentración de colesterol y, a través de éste, sobre las hormonas esteroideas antes del parto; además influye en el peso del ternero al nacimiento y en la población folicular postparto (Butler, 1991).

2.6 Pectina

Los tejidos de las partes comestibles de frutas y vegetales consisten en células parenquimatosas que contienen una lamina media formada principalmente de pectina; está presente una pared primaria, la cual es un gel firme de pectina, celulosa, hemicelulosa y proteínas, y en algunos casos también hay una pared secundaria con abundancia de celulosa y hemicelulosa. Las sustancias pécticas constituyen la pared celular de las plantas, son un grupo de compuestos que incluyen protopectina y ácidos péctinicos. Al conjunto de todos estos compuestos se les llama pectinas. En frutas y verduras las pectinas constituyen un factor determinante de la textura y firmeza, y por tanto de la calidad del producto (Valdés, 2006). El ablandamiento característico de las frutas al alcanzar la madurez se debe al

aumento de las enzimas pectinolíticas, que está controlado fisiológicamente por la planta: la pectinesterasa y la poligalacturonasa (Schwimmer, 1981).

2.6.1. Estructura y función

La estructura básica de la pectina es una cadena de ácido anhidro-D-galacturónico con uniones $\alpha(1\rightarrow4)$, con algunos grupos carboxilo (COOH) metilados. Entre mayor sea el grado de metilación (GM) menor es la temperatura a que se forma el gel. La pectina comercial, obtenida por extracción con ácido de cáscara de cítricos tiene menos de 50% de los grupos carboxilos metilados (GM<50); se usa para la fabricación de jaleas y mermeladas con altas concentraciones de azúcar. Un GM=74 se usa para la formación rápida de geles en jaleas y mermeladas en que se requiere una distribución homogénea del gel. Por tanto, las pectinas comerciales pueden ser de alto o bajo grado de metilación (Figura 15) (Jane, 2000).

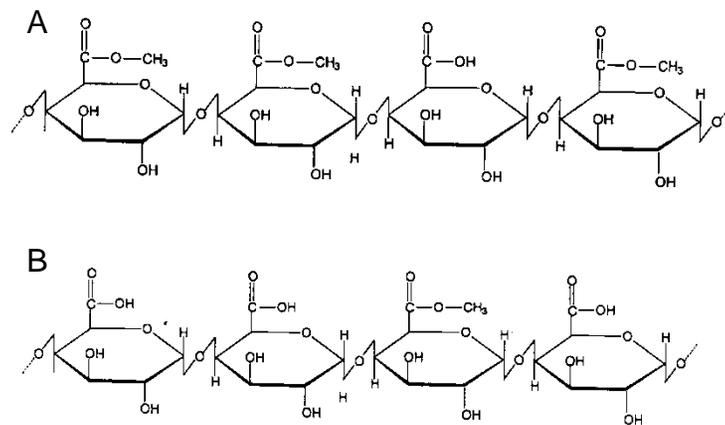


Figura 15. Pectina con: a) bajo grado de metoxilos; b) alto grado de metoxilación

Aunque las pectinas son solubles en agua, el grado de metilación afecta a diversas propiedades, incluyendo su solubilidad, la cual es inversamente proporcional al grado de metilación (Willats y col., 2006). Las unidades de ácido galacturónico esterificadas con metilo tienen la facilidad de romperse en la unión α ; el grupo COOH es donador de electrones mientras que el carboxilato no lo es, por tanto si se saponifica antes de la eliminación, la cadena permanece intacta. Se necesita un medio ácido para la gelificación de las pectinas; las pectinas con alto GM pueden formar uniones electrostáticas entre los grupos COOH y OH

de las cadenas a pH ácido (2.0 a 3.5); el resultado es un mejor gelificación. La adición de sales de calcio como CaCl_2 en pectinas con bajo GM forma entrecruzamiento entre cadenas, promoviendo la gelificación (Jane, 2000). Esta propiedad se emplea para aumentar la firmeza en algunos vegetales para los que se desea mayor firmeza.

2.6.2. Efecto de las enzimas pectinolíticas

Las enzimas que hidrolizan a las pectinas son de tres tipos: poligalacturonasas, pectatoliasas y pectinesterasas. Las poligalacturonasas rompen los enlaces glucosídicos $\alpha(1-4)$ mediante hidrólisis, creándose dos moléculas similares a la original aunque de menor tamaño debido a la aparición de una nueva terminal reductora. Las pectatoliasas rompen también enlaces $\alpha(1-4)$, pero mediante un mecanismo de β -eliminación que genera un Δ -4,5 urónido insaturado. Las pectinesterasas rompen el enlace éster, reduciendo el grado de metilación; por lo que no son enzimas pectinolíticas en sentido estricto, pero su acción facilita el ataque posterior de otras enzimas.

2.6.3. Efecto de la pectina en dietas para animales y humanos

La administración de pectina en la dietas para animales de laboratorio y para humanos en el metabolismo de los lípidos tiene efecto similares, aunque el mecanismo es todavía confuso. Esta adición da como resultado un incremento en la excreción fecal de ácidos biliares y grasa total, disminuyendo también el colesterol en suero sanguíneo (Tsai, 1976). Se sugiere que la eficacia de la pectina para disminuir la concentración de colesterol en sangre se debe a la presencia de sustituyentes metoxilo lo que produce un gel viscoso (Ershoff, 1962); otros autores concluyen que el aumento de viscosidad en el intestino delgado, debido a la presencia de pectina, reduce la hipocolesterolemia (Kay, 1977), lo que ocurre al unirse a los ácidos biliares y facilitar su expulsión junto con las heces, y contribuye a la disminución del riesgo de aparición de diferentes enfermedades cardiovasculares (Jackson, 2007). Lin (1957) encontró que el suministro de pectina a ratas aumenta la excreción fecal de lípidos, colesterol y ácidos biliares.

Al incrementarse la viscosidad por el alto grado de metoxilación, disminuye la formación de micelas y se reduce el movimiento de β -caroteno en las células de absorción; en

consecuencia disminuye el efecto de conversión de β -caroteno a vitamina A (Erdman, 1986). Gronowska-Senger y col. (1981) indicaron que la fibras dietéticas de varios tipos, incluida la pectina, suministrada en niveles altos en la dieta (5 -20%) disminuyen la utilización de β -carotenos en la rata. En pollos se encontró que el grado de metoxilación de la pectina se correlacionó positivamente con el grado de reducción en la utilización de β -caroteno (Erdman, 1986); lo que se comprobó al suministrar pectina de manzana y de cítricos, de alto GM.

Se han reportado efectos adicionales del suministro de pectina. Jackson (2007) indica la disminución de hasta 40% de células cancerígenas en próstatas expuestas a la pectina. Leveille y Sauberlich (1966) realizaron estudios *in vitro*, encontrando que la pectina disminuye el transporte de ácido taurocólico a través de sacos invertidos intestinales y teniendo alguna afinidad para las sales biliares.

Se han realizado también investigaciones sobre el efecto de inclusión de pectina en dietas para humanos sobre la grasa y la excreción de esteroides, aunque los mecanismos de acción no han sido aclarados. Kay y col. (1977), estudiando la administración por vía oral de pectina en forma de gel por un período de 21 días a hombres y mujeres, encontraron una disminución de 5% de colesterol en suero y 13% en plasma. También se observó la disminución de hasta 44% de la excreción de grasa en heces, 17% de esteroides neutrales y 33% de ácidos biliares. Sin embargo, no hubo efecto en la concentración de triglicéridos. Otros investigadores (Palmer y Dixon, 1996) reportaron la disminución de 2 a 6% de colesterol en plasma al suministrar 2 a 10 g diarios de pectina por 2 semanas y con el suministro de 3 g/día durante 2 semanas se obtuvo una reducción de 12% de colesterol en el plasma.

3. HIPÓTESIS

Los carotenoides de los forrajes verdes presentan alta absorción a nivel intestinal en bovinos, la cual puede ser disminuida con el suplemento de pectina.

4. OBJETIVOS

4.1. Objetivo general

Estudiar el efecto del suministro de pectina en la desaparición y digestibilidad de carotenoides, con el fin de disminuir el color amarillo de la grasa de la canal en bovinos.

4.2. Objetivos específicos

1. Estudiar la desaparición de carotenoides en pruebas de degradabilidad *in situ* a través del paso de bolsas móviles en el intestino delgado y grueso.
2. Estudiar la digestibilidad y absorción de β -caroteno y pectina en el canal gastrointestinal de bovinos
3. Estudiar el efecto del suplemento de pectina en la dieta en la concentración de colesterol en suero sanguíneo.

5. MATERIALES Y MÉTODOS

El estudio se dividió en dos partes. La primera consistió en la selección y análisis bromatológico de pastos tropicales comunes en México. Se seleccionó al pasto Estrella africana (*Cynodon plectostachyus*), ya que es de uso más común en el trópico de México, tolera bien el calor, la sequía y los suelos de baja calidad; resiste los suelos ácidos y los salinos; en general, prospera en una amplia gama de suelos que se encuentran en el trópico mexicano y presenta una rápida recuperación después del corte. Por su potencial productivo se encuentra entre los pastos con mayor producción de materia seca durante un ciclo anual. Este forraje se usó en los experimentos llevados a cabo posteriormente.

La segunda parte del estudio consistió en pruebas metabólicas digestivas, con el fin de evaluar el efecto de la pectina depositada en el duodeno, como un material antagonista de los pigmentos, para disminuir su absorción intestinal.

5.1. Primera parte. Análisis de forrajes tropicales y degradabilidad *in situ* del pasto Estrella

5.1.1. Lugar de recolección

Las muestras de forraje se recolectaron en el rancho “El Torreón”, propiedad de la Universidad Veracruzana, en el Estado de Veracruz, y en el rancho “El Descanso” del municipio de Balancán de Rodríguez, Estado de Tabasco. En ambas entidades federativas se presenta la grasa amarilla en las canales bovinas.

5.1.2. Forrajes

Se tomaron 15 muestras por cada tipo de forraje, de 21 a 25 días de rebrote prefloración con un corte a ras de suelo. Las variedades de especies de gramíneas forrajeras más empleadas en la región, de las cuales se obtuvieron muestras fueron:

1. Pasto Pangola (*Digitaria decumbens*)
2. Pasto Estrella (*Cynodon plectostachyus*)
3. Pasto Insurgentes (*Brachiaria brizantha*)

4. Pasto Tanzania (*Panicum maximum*)

5. Pasto Llanero (*Andropogon gayanus*)

Se muestreó de manera sistemática para evitar cortar el forraje por más de una vez en el mismo lugar. Las muestras fueron colectadas en al menos 7 áreas diferentes dentro de cada área, éstas fueron guardadas en bolsas de plástico negras para protegerlas de la luz y reducir al mínimo la destrucción de los pigmentos presentes. Posteriormente las muestras se conservaron en una hielera a 3-4°C y se trasladaron inmediatamente al Laboratorio de Fisiología Postcosecha del Colegio de Postgraduados, Campus Montecillo.

En el laboratorio, las muestras de forrajes se cortaron con tijeras en fracciones de menos de 3 mm de longitud, con iluminación mínima para la protección de los pigmentos. Terminado el corte se colocaron las muestras en frascos ámbar y se mezclaron vigorosamente con el fin de obtener un material homogéneo, con un peso aproximado de 50 g. Los frascos se almacenaron a -20°C hasta sus análisis bromatológicos, contenido de β -caroteno, y clorofilas a y b (inciso 5.3). Los análisis bromatológicos se realizaron en el laboratorio de Nutrición Animal del área de Ganadería del Colegio de Postgraduados, Campus Montecillo, y la concentración total de carotenos se realizó en el Laboratorio de Fisiología Postcosecha del Colegio de Postgraduados, Campus Montecillo.

5.1.3. Degradabilidad *in situ*

5.1.3.1. Lugar de estudio

La prueba de degradabilidad *in situ* se realizó en la unidad metabólica del Colegio de Postgraduados, Campus Montecillo, ubicada en el km 36.5 de la carretera México-Texcoco, Estado de México.

5.1.3.2. Animales y alimentación

Cuatro novillos Holstein (384 ± 60 kg) canulados en rumen y duodeno, fueron utilizados para evaluar la función digestiva con la técnica *in situ*. Las cirugías se realizaron 3 meses antes del inicio del experimento implantando cánulas de rumen y duodeno que fueron fabricadas

con tubos de Tygon-R3603®. Las cirugías se realizaron con un protocolo de manejo adecuado en los animales facilitando el bienestar y menor estrés posible con un tiempo de recuperación de 15 a 20 días para dar inicio a la adaptación de la fase experimental. El protocolo para la preparación quirúrgica, el mantenimiento y manipulación de los novillos fue el aprobado por el cirujano veterinario del Colegio de Postgraduados. Los novillos fueron alojados en jaulas metabólicas individuales de 2.42 x 3.74 m. Posteriormente se desparasitaron con Ivermectina (Ivomec® Bovinos/Ovinos, Laboratorio Merial, México). Los animales contaban con libre acceso a agua, la ingesta de materia seca de alfalfa henificada se calculó en 3% del peso corporal; se alimentaron diariamente a las 8 y 18 horas.

5.1.3.3. Incubación de forraje en el rumen

Se emplearon bolsas de nylon de 20 x 10 cm y de 5 x 3 cm, ambas de 47 μ de tamaño de poro; cada bolsa fue pesada e identificada; a las de mayor tamaño se les colocó en su interior 7 g y a las de menor tamaño 1.2 g de muestras de pasto estrella (*Cynodon plectostachyus*); se cerraron con hilo de poliseda. Para obtener muestras a la hora cero, se separaron 10 bolsas de 20 x 10 cm conteniendo pasto estrella antes de la incubación en el rumen; se lavaron con agua corriente y se almacenaron en congelación (-20°C) hasta su análisis. El resto de las bolsas conteniendo al forraje se fueron introduciendo a incubación por 12, 24, 48 y 72 h en el rumen, empleando 10 repeticiones para las bolsas de mayor tamaño y 20 repeticiones para las de menor tamaño (2 repeticiones por cada animal). Las bolsas se introdujeron unidas a una cadena con el objetivo que flotarán en el fluido ruminal; estas se retiraron tirando de la cadena. Las bolsas de nylon de 20 x 10 cm se lavaron repetidamente con agua corriente hasta que eliminar todo residuo de líquido ruminal; las bolsas de 5 x 3 cm se emplearon para continuar con el estudio de digestibilidad.

5.1.3.4. Incubación de forraje en el intestino

La desaparición de nutrientes durante el paso por el intestino se determinó mediante la técnica de bolsas móviles, reportada por De Boer y col. (1987). Terminada la incubación en el rumen por 12, 24, 48 y 72 h de las bolsas móviles de 5 x 3 cm, estas se introdujeron en condiciones que simulaban la digestión abomasal (Anexo 1). Posteriormente, se introdujeron 5 bolsas en la cánula del duodeno cada 15 min hacia el intestino delgado, totalizando 20

bolsas. Estas bolsas fueron recuperadas y recolectadas después de 12 a 14 h en las heces; se colocaron en recipientes con agua fría (aproximadamente 6-10°C) con el objeto de detener la actividad microbiana y se lavaron para retirar los residuos externos. Las muestras de forraje de las bolsas recolectadas en las heces se conservaron en frascos ámbar a -20°C hasta su análisis.

5.2. Segunda Parte. Digestibilidad *in vitro* y estudio del metabolismo digestivo con dosificación de β -caroteno e infusión de pectina vía duodenal

5.2.1. Digestibilidad *in vitro*

5.2.1.1. Lugar de estudio

La extracción del líquido ruminal para esta parte del estudio se llevó a cabo en la Unidad Metabólica del Colegio de Postgraduados, Campus Montecillo, Texcoco, Estado de México. La incubación del forraje en el líquido ruminal y la determinación de la digestibilidad de la materia seca se llevaron a cabo en el laboratorio de Bioquímica de Macromoléculas de la Universidad Autónoma Metropolitana, Unidad Iztapalapa. El análisis de las muestras para la determinación de la concentración total de carotenos se realizó en el Laboratorio de Fisiología Postcosecha del Colegio de Postgraduados, Campus Montecillo. Otros análisis cromatográficos se llevaron a cabo en el laboratorio de Bioquímica de Macromoléculas de la Universidad Autónoma Metropolitana, Unidad Iztapalapa.

5.2.1.2. Animales y Alimentación

El líquido ruminal utilizado provenía de 4 novillos Holstein con un peso promedio de 320 ± 35 kg, de 11 meses de edad, fistulados con cánula Tygon-R3603®. Veinte días antes de la extracción se les proporcionó como alimento rastrojo de maíz molido (criba de 2.5 cm), en una proporción de 3% de su peso vivo. En México es común la utilización del rastrojo de maíz como alimento para rumiantes, posee un bajo nivel de nutrientes y mediana digestibilidad; carece de pigmentos y es muy tosco debido a su estado de lignificación.

5.2.1.3. Incubación de forraje

El forraje utilizado fue alfalfa henificada (*Medicago sativa*). La digestibilidad *in vitro* de materia seca y los carotenoides presentes se analizaron en muestreos a las 0, 12, 24, 48 y 72 h por el método reportado por Tilley y Terry (1963), mediante el siguiente proceso:

Obtención del líquido ruminal

Se extrajeron 2 L de líquido ruminal de cada uno de los cuatro novillos canulados. Cada muestreo de líquido se decantó manualmente a otro recipiente con el fin de eliminar las partículas grandes de alimento y se conservó en un termo a 39°C. Posteriormente en el laboratorio se filtró con una malla de tela de 0.05 mm y se agregó 3 g de urea y el líquido se transfirió en matraces Erlenmeyer cubiertos con papel aluminio, a 39°C.

Preparación de muestras para análisis de digestibilidad *in vitro* y carotenoides totales del forraje

Se pesaron 0.5 g de alfalfa henificada (*Medicago sativa*). Esta muestra se colocó en un tubo de centrífuga; se adicionaron a cada tubo 50 mL de saliva de McDougall, la cual se considera el sistema amortiguador que llena los requisitos de estabilidad de pH y requerimientos minerales de los microorganismos ruminales (Anexo 2); en seguida se agregaron 5 mL de líquido ruminal. Con el fin de propiciar las condiciones de anaerobiosis necesarias, se suministró una corriente de dióxido de carbono en la superficie del tubo por 15 seg, y se cerró inmediatamente con tapones de corcho. Al tapón se insertaron dos agujas de 21 x 32 mm para permitir la salida de gas sin que se afectara la fermentación. El blanco consistió en tubos de centrífuga con los mismos reactivos y condiciones, sin agregar la muestra de forraje. Los tubos se incubaron a 39°C en un baño maría. Las muestras se analizaron por triplicado.

Con el fin de dispersar las partículas presentes, los tubos se agitaron suavemente durante la incubación cada 2 h durante las primeras 8 h, después cada 4 h durante 24 h y cada 12 h hasta el final del experimento. Al concluir la etapa de incubación, el contenido de los tubos se filtró al vacío a través de papel Whatman 541; el residuo en el papel se secó a 60°C por 24 h

en una estufa marca Felisa (México D.F.), posteriormente se colocó en un desecador para enfriar a temperatura ambiente (aproximadamente 18°C), se pesó en una balanza analítica Explores Ohaus (Ohio, USA). La digestibilidad de materia seca se obtuvo de la siguiente ecuación:

$$\% \text{ MSD} = \frac{\text{MSI} - (\text{MSR} - \text{MSRB})}{\text{Materia seca inicial}} \times 100 \quad (1)$$

donde:

MSD: Materia seca digerible

MSI: Materia seca indigerible

MSR: Materia seca residual

MSRB: Materia seca residual del blanco

Para el análisis de carotenoides totales las muestras y el papel filtro Whatman 541 se colocaron en un frasco ámbar y se almacenaron a -20° C para su posterior extracción y análisis.

5.2.2 Prueba de digestibilidad metabólica

5.2.2.1 Lugar de estudio

Esta fase del estudio se llevó a cabo en la Unidad Metabólica del Colegio de Postgraduados, Montecillo; los análisis bromatológicos de las muestras se llevaron a cabo en el laboratorio de Nutrición Animal del Área de Ganadería, Colegio de Postgraduados. El análisis de las muestras de los pigmentos (β -caroteno y clorofilas a y b) y de colesterol se realizaron en el laboratorio de Bioquímica de Macromoléculas de la Universidad Autónoma Metropolitana, Unidad Iztapalapa.

5.2.2.2 Animales

Se utilizaron 4 novillos Holstein con un peso promedio de 462.5 kg, con cánula ruminal y duodenal, alojados en corraletas individuales de 2.42 x 3.74 m, con sombra y una área soleada, comedero y bebedero; se evitaron las corrientes de aire considerándose la ventilación en las corraletas adecuada para evitar la acumulación de amoníaco y prevenir la irritación de los ojos y vías respiratorias. El mantenimiento y manipulación de los novillos fue supervisado por el Médico cirujano veterinario del Colegio de Postgraduados. El alimento se suministró dos veces al día (7 y 19 horas), con un consumo aproximado total por día de 9.6 kg (MS). La dosis de óxido de cromo como marcador para medir la digesta se calculó en 0.4%. La dosis se dividió en 2 partes y se suministró en cada hora de comida directamente en la cánula ruminal, inmediatamente después de suministrar el alimento; el consumo de este elemento fue 38.41 g/día/animal. Se calculó en cada periodo experimental la materia seca de la dieta suministrada a los animales, obteniendo submuestras y preparando un compuesto del alimento.

5.2.2.3. Distribución de tratamientos-animales

Se estudió el efecto de β -caroteno en interacción con pectina. En la primera etapa, los 4 becerros Holstein consumieron la dieta basal de heno de alfalfa. La estrategia experimental consistió en la aplicación de los siguientes tratamientos:

1. Dieta basal + cromo (marcador de digestibilidad) + β -caroteno (3 g)
2. Dieta basal + cromo + β -caroteno (3 g) + pectina en dosis baja (0.004%)
3. Dieta basal + cromo + β -caroteno (3 g) + pectina en dosis media (0.01%)
4. Dieta basal + cromo + β -caroteno (3 g) + pectina en dosis alta (0.02%)

Éstos se aplicaron en cuatro periodos (Anexo 3). Cada periodo consistió en 10 días de adaptación y 5 días de muestreo. Los porcentajes de pectina se calcularon con base en el peso vivo del animal; los tratamientos fueron suministrados durante el periodo de adaptación y de muestreo. La pectina se introdujo al duodeno vía cánula; el cromo y β -caroteno fueron administrados directamente en la cánula del rumen. El β -caroteno, con 30% de pureza, fue de la marca Alfadeita^{MR} (Estado de México).

5.2.2.4. Recolección de líquido ruminal

El líquido ruminal se colectó 3 h postprandial, en el primero y el último día de cada periodo experimental, extrayendo directamente de la cánula ruminal. Se obtuvieron 400 a 500 mL de cada becerro. Las muestras se depositaron en vasos de precipitado y se llevaron al Laboratorio de Nutrición Animal del Colegio de Postgraduados, en donde se filtraron con una malla de poro aproximado de 0.05 mm; en el filtrado se midió pH y ácidos grasos volátiles y se almacenó a -20°C en frascos cerrados, hasta su análisis.

5.2.2.5. Colección de muestras de fluido duodenal y materia fecal

La colección de muestras fecales y duodenales se llevó a cabo 1.5 h postprandial durante 5 días. Las horas de este muestreo se distribuyeron de la siguiente manera:

Tabla 4. Horario de colección de muestras de líquido duodenal y materia fecal

Día	Horas	
	AM	PM
1	6:45	12:35
2	9:05	2:55
3	7:55	1:45
4	11:25	5:15
5	10:15	4:05

La muestra de contenido duodenal se tomó directamente de la cánula recibiendo el líquido en un recipiente de plástico; se recolectaron aproximadamente 400 mL por muestra. Éstas se almacenaron a -20°C en recipientes de plástico con capacidad de 3 L hasta su uso. Las muestras de contenido fecal se seleccionaron evitando contaminación con alimento, polvo, pelo del animal, etcétera; se colectaron 200 g de heces aproximadamente en cada muestra, las cuales se almacenaron a -20°C hasta su análisis.

5.2.2.6 Muestreo de sangre

Se tomaron muestras de sangre antes del periodo experimental, y en el último día de cada periodo. Cada muestra consistió en 10 mL, extraída de la vena coccígea por punción con agujas y tubos Vacutainer; los tubos contenían ácido etilendiaminotetraacético (EDTA) como conservador. Las muestras fueron almacenadas en una hielera, a 4°C aproximadamente; se transportaron inmediatamente al Laboratorio de Nutrición Animal donde se centrifugaron a 3000 rpm por 4 min. Se observó que el plasma sobrenadante y el suero estuvieran transparentes, limpios y sin restos de hemólisis. Finalmente, el plasma se conservó a -20° C hasta su análisis.

5.3. Métodos analíticos

Todos los análisis se llevaron a cabo por triplicado

5.3.1. Humedad y materia seca

Se pesaron 2 g de muestra en charolas (previamente llevadas a peso constante a 60°C por 2 h, y taradas) en una estufa (Riossa^{MR}, México D.F); las muestras se secaron a 60°C por 24 h. Después de este tiempo se colocaron en un desecador hasta alcanzar la temperatura ambiente (aproximadamente 18°C). Las charolas con las muestras se pesaron en una balanza analítica Explorer Ohaus. El cálculo de humedad y de materia seca se obtuvo de la siguiente ecuación:

$$\% \text{ humedad} = \frac{\text{Pérdida de peso (g)}}{\text{Peso muestra (g)}} \times 100 \quad (2)$$

$$\% \text{ materia seca} = 100 - \% \text{ humedad} \quad (3)$$

El material seco se almacenó en un desecador para ser usado en la determinación del extracto etéreo. Todas las subsecuentes determinaciones fueron analizadas y expresadas en porcentaje de la muestra en base seca.

5.3.2. Cenizas

Se llevó a cabo siguiendo el método descrito por AOAC (1975). Se emplearon crisoles a peso constante (100°C por 12 h) en una estufa Riossa^{MR}, se almacenaron en un desecador hasta alcanzar la temperatura ambiente. En los crisoles fríos y tarados, se pesaron muestras de 2 g y se colocaron en una mufla en donde se incrementó gradualmente la temperatura hasta llegar a 500°C, en donde se mantuvo por 12 h. Los crisoles con muestra se enfriaron dentro de la mufla hasta 100°C, se pasaron a un desecador hasta alcanzar la temperatura ambiente y se pesaron. La cantidad de cenizas y de materia orgánica se calcularon con las siguientes ecuaciones:

$$\% \text{ cenizas} = \frac{(\text{peso crisol} + \text{muestra}) - (\text{peso crisol} + \text{cenizas})}{\text{peso de la muestra}} \times 100 \quad (4)$$

$$\% \text{ materia orgánica} = \% \text{ materia seca} - \% \text{ cenizas} \quad (5)$$

5.3.3. Contenido de grasa cruda

La extracción de grasas se realizó con un equipo Goldfish (Labconco, Nueva cork, Estados Unidos), según la técnica reportada por AOAC (1990). Se llevaron los vasos de precipitados a peso constante (110°C por 1 h); las muestras de 2 g, secada como se indica en el inciso 5.3.1, se colocaron en estos vasos junto con 25 mL de éter etílico. Los vasos se fijaron a los condensadores con un anillo de rosca. Se llevó a cabo la extracción, cuidando que se

condensaran 5 a 6 gotas/seg, con un tiempo total de operación de 6 h (puede emplearse una velocidad de condensación de 2 a 3 gotas/seg, en cuyo caso la operación toma un tiempo total de 16 h). Concluida la extracción, las muestras se secaron en una estufa a 110°C por 30 min para evaporar los residuos de éter. Se enfriaron en un desecador y pesaron. El porcentaje de extracto etéreo en base seca, se calculó con la siguiente ecuación:

$$\% \text{ extracto etéreo (base seca)} = \frac{\text{g extracto etéreo}}{\text{g muestra}} \times 100 \quad (6)$$

5.3.4 Contenido de proteína

Se analizó por el método de Kjeldahl (AOAC, 1975), el cual consiste en convertir el nitrógeno presente en sulfato ácido de amonio durante la digestión de la materia orgánica con ácido sulfúrico y calor en la presencia de un catalizador. Cuando la materia orgánica se ha digerido, la solución se neutraliza con hidróxido de sodio liberándose amoníaco, el cual es destilado por arrastre de vapor, disolviéndose en una solución de ácido bórico para formar un complejo boro-amoniaco (tetraborato de amonio). La cuantificación del nitrógeno se lleva a cabo al titular la solución boro-amoniaco con ácido clorhídrico 0.1 N, formando un equivalente de sulfato-amoniaco (sulfato de amonio); 1 mL de ácido clorhídrico 0.1 N neutraliza 0.014 g de nitrógeno en forma de ión amonio. Las muestras (0.5 g) se colocaron en el matraz de micro Kjeldhal; se adicionaron 1 g de catalizador (mezcla catalizadora: 96 g de sulfato de sodio, 3.5 g de sulfato de cobre y 0.5 g de selenio negro) y 3 mL de H₂SO₄ concentrado. La mezcla se digirió hasta que la solución fue transparente, se enfrió a temperatura ambiente y se transfirió a un destilador, lavando el matraz con una mínima cantidad de agua destilada. La mezcla se neutralizó con 12 mL de NaOH (NaOH al 40%: 0.800g de NaOH/2 L de agua destilada); se destilaron aproximadamente 30 mL, recogiendo por burbujeo en 6 mL ácido bórico al 4%, con una solución indicadora (20 mg de rojo de metilo+100 mg de verde de bromocresol, aforado a 100 mL con alcohol etílico al 96%). La solución obtenida se tituló con HCl 0.1 N, hasta el cambio de color verde a rosado claro. La cantidad de nitrógeno total en la muestra se obtuvo de la siguiente ecuación:

$$\% N_{\text{total}} = \frac{(\text{volumen HCl}) (N \text{ HCl}) 1.4}{\text{peso de la muestra}} \quad (7)$$

La cantidad de proteína se calculó multiplicando el porcentaje de nitrógeno por un factor de 6.25.

5.3.5. Fibra detergente neutra (FDN)

La cantidad presente de pared celular, o fibra detergente neutra (FDN), fue determinada empleando un equipo de fibra cruda marca Labconco^{MR} (Kansas City, Estados Unidos). Los reactivos empleados y el método aplicado se detallan en el Anexo 4. Se siguió el método reportado por Van Soest (1970).

5.3.6. Fibra detergente ácido (FDA)

Este análisis se llevó a cabo en las muestras de alimento siguiendo el método de detección de lignocelulosa (Van Soest, 1972). Se utilizaron reactivos, equipo y métodos similares a FDN, con las diferencias detalladas en el Anexo 5.

5.3.7 Cromo

Se determinó con el método reportado por Williams (1962). Las muestras de líquido duodenal y heces, recolectadas y conservadas en congelación como se indica en el inciso 5.2.2.5, se colocaron en un recipiente de vidrio. Posteriormente se descongelaron y secaron a 100°C por 48 h; se molieron y almacenaron en frascos de vidrio de 100 mL con tapas de rosca. De estas muestras secas se pesó 0.5 g, se colocó en una mufla elevando la temperatura de la mufla en forma gradual hasta llegar a 600°C, donde se mantuvo por 12 h. Una vez calcinadas las muestras, se adicionaron 3 mL de solución de ácido fosfórico-sulfato de manganeso y 4 mL de solución de bromato de potasio. Posteriormente se colocaron en una placa de calentamiento, donde se llevaron a ebullición; se enfriaron y diluyeron con agua desionizada, transfiriéndose a un matraz volumétrico de 100 mL al que se añadieron 10 mL de una solución de cloruro de calcio (5000 ppm) y aforó con agua desionizada. La solución

se dejó reposar toda la noche para que el material en suspensión precipitara. Por último, se leyó la concentración de cromo en un espectrofotómetro de absorción atómica AAnalyst 200 con un softwer Quick Start V3.0 2006 con una lámpara multielemental (Perkin Elmer, Singapur). Se leyó a 425.4 nm con un slit de 0.5 nm, utilizando acetileno y aire. El cromo se utilizó para determinar el flujo y la digestibilidad de nutrientes en base al cálculo de las siguientes formulas:

$$\text{Flujo de nutriente (\%)} = \frac{(\text{nutriente}^* \text{ en duodeno/nutriente en heces}) (\text{cromo en alimento})}{(\text{cromo en duodeno o heces})(\text{nutriente}^* \text{ en alimento})} \times 100 \quad (8)$$

$$\text{Digestibilidad (\%)} = \frac{1 - [(\text{cromo en alimento}) (\text{nutriente}^* \text{ en alimento})]}{(\text{cromo en duodeno o heces}) (\text{nutriente}^* \text{ en alimento})} \times 100 \quad (9)$$

* se considera nutriente: MS, MO, FDN, proteína, grasa, β —caroteno, clorofilas a y b, etcétera

5.3.8. Ácidos grasos volátiles (AGV)

Se siguió el método reportado por AOAC (1975), adaptado por el Laboratorio de Microbiología Ruminal del Colegio de Postgraduados, Campus Montecillo. Se filtró el líquido ruminal con malla de 0.05 mm de poro aproximado; 1.5 mL de este se colocó en tubos Eppendorf conteniendo previamente 0.375 mL de ácido meta-fosfórico al 25%. Estas muestras se almacenaron a 4°C durante 24 h; se centrifugaron en una centrífuga Eppendorf (Hamburgo, Alemania) a 14,000 rpm por 10 min. Posteriormente se tomaron de 100 a 1000 μ L del sobrenadante y se colocaron en viales, se cerraron y se colocaron en el muestreador de un cromatógrafo de gases Perkin Elmer 500 (Wellesley, Massachussets, Estados Unidos) equipado con un detector de ionización de flama y una columna capilar Elite FFAP (longitud de columna de 15 m y diámetro interno de 0.32 mm). Se inyectó 1 μ L, utilizando hidrógeno como gas acarreador con un flujo de 15 mL/min, a 60 psi. La temperatura del horno fue 140°C, incrementando hasta 250°C con una rampa de 2°C/min. El detector e inyector se mantuvieron a 250 y 200 °C, respectivamente. Los tiempos de retención y áreas bajo la curva se calcularon con un programa TC Navigator (Total Chrom Workstation, versión

6.3.1.2006. Perkin Elmer). La identificación y cuantificación se llevó a cabo comparando con los obtenidos de curvas patrón obtenidas con estándares de ácidos grasos.

5.3.9. pH ruminal

Se analizó inmediatamente después de filtrado en la muestra sin diluir (Inciso 5.2.2.4) con un potenciómetro digital (Conductronic, México D.F.), calibrado con soluciones búfer pH 7.0 y 4.0.

5.3.10. Carotenoides totales

Se empleó una modificación de la técnica reportada por Bruinsma (1963). De las muestras sólidas (forraje y heces) se pesó 0.5 g; de las muestras líquidas (líquido ruminal y líquido duodenal) se tomaron 5 mL. En ambos casos se colocaron en frascos ámbar de 50 mL en donde se añadieron 20 mL de acetona y 0.01% de una mezcla de BHA:BHT (1:1). Los frascos se agitaron a 200 rpm en una incubadora de agitación orbital Lab-Line (Melrose Park, Illinois, Estados Unidos) por 3 h a temperatura ambiente evitando la luz. Las muestras se filtraron en papel Whatman 2, adicionando a los frascos 20 mL de éter de petróleo, mezclando continuamente; se dejó reposar 5 a 10 min. Una vez que se observó separación de fases, se desechó la fase inferior, repitiendo la extracción 2 a 3 veces y recolectando la fase superior orgánica que contenían a los pigmentos. La acetona se eliminó con 2 o 3 lavados sucesivos con agua destilada. Al extracto libre de acetona se le adicionó 10 mL de NaOH al 40%, se agitó y se eliminó la parte inferior; se lavó 1 a 3 veces con agua destilada hasta eliminar el NaOH, lo que se comprobó adicionando 3 gotas de fenoftaleína. Posteriormente se lavó 1 a 3 veces con 20 mL de NaSO₄ al 10%, lavando 3 veces con agua destilada. Se extrajo la parte inferior con pipetas Pasteur, se colocó en matraces aforados de 50 mL y se aforó con acetona/éter de petróleo/agua (85:10:5, v/v/v).

Se empleó un espectrofotómetro Spectronic 20 (Milton Roy, Rochester, Estados Unidos), las muestras se leyeron a 454 nm utilizando como blanco éter de petróleo. La cantidad de carotenoides totales en la muestra se obtuvo de la siguiente ecuación:

$$\text{Carotenoides totales} = \frac{(\text{A}) (\text{FD}) (\text{V}) (3.85)}{(\text{peso}) (\text{alícuota})} \times 100 \quad (10)$$

Donde:

A - Absorbancia a 454 nm

V - Volumen total de la muestra

Peso - Peso de la muestra

Alícuota – 1 mL de muestra

FD - Factor de dilución

3.85 - Factor de conversión (Valor obtenido de 250 muestras analizadas para carotenoides)

5.3.11. Colesterol

Una vez que se obtuvo el plasma por centrifugación de las muestras de sangre, como se indica en el inciso 5.2.2.6, la muestra se colocó en un embudo de separación al que se añadieron 10 mL de éter de petróleo y se agitó vigorosamente; este procedimiento se repitió 2 veces. Posteriormente se añadieron 20 mL de agua destilada y se dejó reposar hasta la separación de dos fases, la inferior se desechó repitiendo el procedimiento 3 veces. A la fase superior en el embudo se añadieron 20 mL de NaOH al 40%, lavando nuevamente 3 veces con agua destilada. Para corroborar la ausencia de condiciones alcalinas, se añadieron unas gotas de fenolftaleína con lo cual no debe de teñir en rosa. Se agregaron 10 mL de KOH al 15% con el fin de saponificar las grasas presentes e incluir en estas al agua remanente en la muestra. Finalmente, se lavó 3 veces con agua destilada desechando la parte inferior de cada lavado. La parte superior se colocó en un matraz aforado de 50 mL, añadiéndose 0.01% de BHA/BHT y llevándose el volumen al aforo con una mezcla de éter de petróleo/acetona/agua (10/85/5). Se filtró con acrodiscos de 0.45 µm (Gelman Acrodisc, Krackeler Scientific, Albany, Estados Unidos) para su posterior análisis en HPLC. Es recomendable llevar a cabo esta metodología inmediatamente antes del análisis cromatográfico.

El análisis se llevó a cabo en un equipo HPLC Varian (Australia) equipado con estación de bombeo (Varian Pro Star) y controlado por un software Galaxia; precolumna y columna

Symmetry de fase reversa (C₁₈) de 15 cm de longitud, 3.9 mm de diámetro interno y 5 µm de tamaño de partícula, opera bajo condiciones isocráticas. Las condiciones de análisis fueron: 40°C, fase móvil: acetonitrilo/Isopropanol (50:50 v/v), flujo: 1 mL/min, longitud de onda de detección: 565 nm. La fase móvil fue filtrada previamente con una membrana Millipore 0.45 µm resistente a disolventes orgánicos, y desgasificada. Se inyectaron volúmenes de 20 µL, previamente filtradas con acrodiscos de 0.45 µm (Gelman Acrodisc); las fracciones obtenidas también fueron filtradas con membranas similares. El colesterol tuvo un tiempo de retención de 3.5 min. Los compuestos fueron identificados mediante un estándar de referencia de colesterol (5-α-colestan-3-β-ol grado cromatografía) (Sigma) disuelto en y isopropanol. Las concentraciones de colesterol en las muestras, expresadas en E-04 mg/mL, se obtuvieron de la interpolación en una curva estándar de 10 puntos previamente construida (Anexo 6).

5.3.12. Pigmentos: β-caroteno, clorofilas a y b

Para la preparación de las muestras, se siguió la misma metodología que se describe en el inciso 5.3.10.

Para el análisis cromatográfico se siguieron las técnicas reportadas por Armenta y col. (2009), y por Franco y col. (2010), empleando el mismo equipo, columna y periféricos descrito en el inciso 5.3.11. La fase móvil para el análisis de β-caroteno y clorofilas fue acetonitrilo/cloroformo/ metanol/agua/ácido propiónico (71:22:4:2:1, v/v/v/v/v), filtrada previamente con una membrana Millipore 0.45 µm resistente a disolventes orgánicos (Gelman Acrodisc) y desgasificada. Se inyectaron volúmenes de 20 µL, las fracciones obtenidas también fueron filtradas con membranas similares. El tiempo total de análisis fue 8 min para β-caroteno y en de 4 min para las clorofilas. La longitud de onda de análisis para β-caroteno fue a 663 nm con un tiempo de retención de 2.89 min; la clorofila a se leyó a 663 nm con un tiempo de retención de 2.89 min, y la clorofila b a 645 nm con un tiempo de retención de 2.41 min. Los compuestos fueron identificados mediante estándares de referencia de β-caroteno (95%), clorofila a y b (Sigma-Aldrich), disueltos en acetona/éter de petróleo/agua (85:10:5, v/v/v). Los análisis de estándares β-caroteno y de clorofilas a y b siguió la metodología reportada por Armenta (2002). Los estándares analizados fueron β-caroteno (95%) y clorofila a y b (Sigma-Aldrich), disueltos en acetona/éter de petróleo/agua

(85:10:5, v/v/v). La concentración de β -caroteno, y clorofilas a y b se obtuvo de la interpolación en una curva estándar de 10 puntos previamente construida (Anexos 7, 8 y 9) y expresada en E-04 mg/mL.

5.4. Diseño experimental y análisis estadísticos

5.4.1. Degradabilidad *In vitro* e *In situ*

Las pruebas de degradabilidad *in vitro* e *In situ* se diseñaron como bloques aleatorizados, considerando la extracción de líquido ruminal o la introducción de las bolsas de degradabilidad en rumen y duodeno de cada becerro como un bloque; los tiempos de incubación fueron las repeticiones. El modelo estadístico en ambos experimentos fue el siguiente (Steel y Torrie, 1980):

$$Y_{ij} = \mu + \beta_i + \varepsilon_{ij}$$

Donde:

Y_{ij} - valor de cada observación individual para la variable dependiente

μ - promedio general

β_i - efecto de i horas de incubación (0, 12, 24, 48 y 72 h)

ε_{ij} - error aleatorio residual.

El efecto del tiempo se clasificó en 0, 12, 24, 48 y 72 h de incubación. Los datos se sujetaron a análisis de varianza y comparación múltiple de las medias de pruebas de Tukey. Todos los análisis se llevaron a cabo a un nivel de significancia $\alpha = 0.05$. Los datos se analizaron con el programa estadístico SAS (2000).

5.4.2. Digestibilidad *in vivo*

La prueba de incubación del sustrato en el rumen y la infusión de β -caroteno y pectina por vía de la cánula duodenal se diseñó como un Cuadro Latino 4 x 4: 4 novillos y 4 tratamientos (testigo, 0.004, 0.01 y 0.02% de pectina). El modelo estadístico fue el siguiente (Steel y Torrie, 1980):

$$Y_{ijk} = \mu + T_i + P_j + \varepsilon_{ijk},$$

Donde:

Y_{ij} - valor de cada observación individual para la variable dependiente,

μ - efecto de la media

T_i - efecto del tratamiento (concentración de pectina)

P_j - efecto del periodo

ε_{ijk} - efecto residual

Los datos se sujetaron a una análisis de varianza y a comparación múltiple de medias de Tukey a un nivel de significancia $\alpha = 0.05$. Los datos se analizaron con el programa estadístico SAS (2000).

6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

6.1. Primera parte. Análisis de forrajes tropicales y degradabilidad *in situ* del pasto estrella

6.1.1. Composición bromatológica de los forrajes

La composición química de los pastos estudiados se muestra en la Tabla 5. El análisis de varianza (Anexo 10) muestra diferencias ($P < 0.001$) en los análisis aplicados de los pastos, a excepción del extracto etéreo que no presentó diferencias ($P > 0.214$). Se eligió el pasto Estrella (*Cynodon plectostachyus*) debido a su abundancia en el trópico y su uso cotidiano en la alimentación de los bovinos. Éste es el que mejor responde a la fertilización y al riego, se maneja con periodos de descanso de 27 días y puede soportar cargas hasta de 4 unidades animales por hectárea. Se destaca también por su rápido crecimiento, amplia capacidad invasora, buena cobertura de suelo y resistencia al manejo intensivo. Específicamente, la concentración de proteína y la FDN de las muestras del pasto utilizado en esta fase experimental fueron similares a los reportados por Pérez y col. (2001).

Tabla 5. Análisis bromatológico de los forrajes estudiados

Forraje	%MS	%PC	%FDN	%FDA	%E.E	% Cenizas	β -caroteno (mg/kg)
Estrella	88.95 ^{a*}	12.62 ^{ad}	60.73 ^a	28.97 ^a	3.53 ^a	10.32 ^a	56.23 ^a
Tanzania	93.03 ^d	12.51 ^d	66.40 ^b	43.71 ^b	3.24 ^a	13.04 ^c	54.21 ^a
Llanero	90.76 ^{abc}	12.92 ^{ac}	69.90 ^c	42.73 ^b	3.32 ^a	9.29 ^{ab}	55.70 ^a
Pangola	93.47 ^{cd}	11.55 ^d	66.73 ^b	41.68 ^b	3.24 ^a	8.39 ^b	54.18 ^a
Insurgentes	93.19 ^{bd}	9.49 ^b	64.16 ^b	36.36 ^c	2.52 ^a	9.6 ^{ab}	50.29 ^b

(*) Medias con superíndices diferentes en la misma columna difieren ($\Pi \leq 0.05$).

MS: Materia seca; PC: Proteína cruda; FDN: Fibra detergente neutra; FDA: Fibra detergente ácida; EE: Extracto etéreo

Dunne y col. (2009) mencionan un contenido de carotenoides en forraje fresco entre 200 y 700 mg de caroteno/kg de MS. La concentración de carotenoides totales en el pasto estrella

fue 627 mg/kg MS (56.23 mg de β -caroteno/kg MS). Este valor fue mayor o similar cuando se comparó con datos de otros estudios. Por ejemplo, se reportan 350 mg caroteno/kg MS en una pradera de *Dactylis glomerata*, *Athamanticum meum* y *Archillea millefolium* (Calderón y col., 2006); 300 a 500 mg caroteno/kg de MS en una combinación de doce cultivos forrajeros (Visser y Blair, 1991); 430 a 700 mg caroteno/kg MS en una combinación de *Lolium spp*, *Dactylis spp* y *Festuca spp* (Prache y col., 2003.), y 350 a 520 mg caroteno/kg MS en ensilados (Chauveau-Duriot y col., 2005; Calderón y col., 2007).

Reynoso y col. (2004) estudiaron la concentración de carotenoides en pasto Pangola (*Digitaria decumbens*) y pasto Bermuda (*Cynodon dactylon*) en regiones tropicales de México, obteniendo un total de 334 mg caroteno/kg de MS en el trópico húmedo y 116 mg caroteno/ kg MS en el trópico seco. Como se reporta en el presente estudio, la concentración de carotenoides fue el doble de la encontrada por otros autores en la misma región de trópico húmedo. Los factores que pudieron influir en estas diferencias fueron la etapa fenológica de forraje, las condiciones climáticas y características de las especies forrajeras (Guimarães y col., 1992).

6.1.2. Desaparición de MS y carotenoides totales en el rumen

La Figura 16 muestra la desaparición de la MS y carotenoides presentes en el pasto Estrella durante su incubación en el rumen. Cuarenta y tres por ciento de MS y carotenoides totales desaparecieron durante las primeras 12 h ($P < 0.001$). De 12 a 72 h de incubación, la MS alcanzó una desaparición de 62%, mientras los carotenoides de 73% ($P < 0.0001$).

El coeficiente de correlación entre la desaparición de la MS y los carotenoides totales fue $r = 0.997$ ($P < 0.001$). Considerando la MS, la concentración de carotenoides totales y la disminución de la concentración de estos dos componentes durante el periodo de estudio, se obtuvieron los siguientes modelos:

$$\begin{aligned} \text{Materia seca desaparecida (\%)} &= 13.7487 + 2.9919X - 0.066X^2 + 0.0005 X^3 & (r^2 = 0.99) \\ \text{Carotenoides totales desaparecidos (\%)} &= 13.2506 - 3.227X - 0.689X^2 + 0.0005X^3 & (r^2 = 0.99) \end{aligned}$$

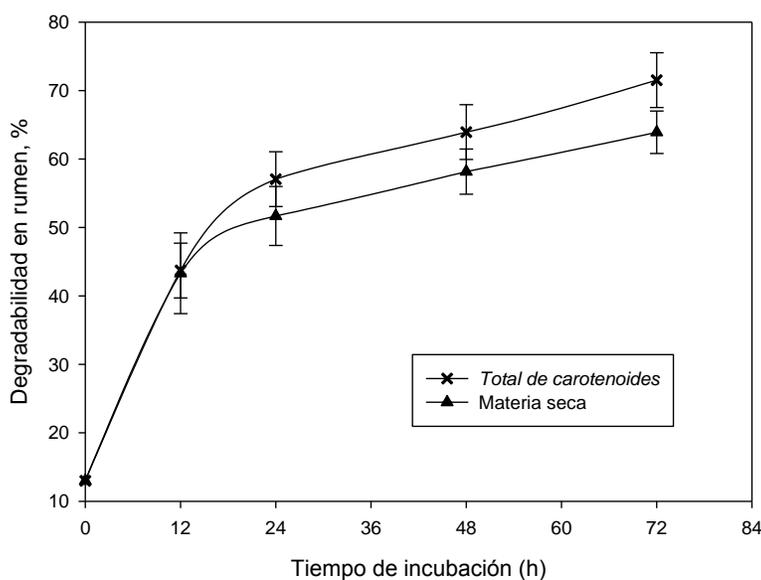


Figura 16. Desaparición *in situ* de MS y carotenoides totales de pasto Estrella (25 días de rebrote) en el rumen de novillos Holstein

Se ha reportado que el promedio de digestibilidad ruminal de la MS en los forrajes tropicales es 53 a 63%, y disminuye con el grado de maduración (Moore y col., 1981; Arthington y Brown, 2005). Los resultados obtenidos por Mora y col. (1999) coinciden con los obtenidos en este estudio respecto a la desaparición en el rumen de carotenoides del forraje, observándose una relación entre la materia seca y el contenido celular. Otros estudios realizados *in situ* con bovinos, en los cuales se incubaron muestras por 4 a 16 h, reportan la desaparición de β -caroteno de 30 (King y col., 1962) y 20% (Keating y col., 1964). Rode y col. (1990) cuantificaron la desaparición de vitamina A en el líquido ruminal de bovinos alimentados con concentrado, heno o pajas, encontrando que las eficiencias en esta desaparición fueron 67, 16 y 19%, respectivamente, concluyendo que se debía a la actividad de enzimas microbianas. Igualmente, Simpson (1983) postuló que eran las enzimas microbianas las que actuaban por medio de reacciones de reducción sobre las dobles ligaduras, tanto de la vitamina A como de los carotenoides, promoviendo una reacción de biohidrogenación. Sin embargo, otros estudios *in vitro* e *in vivo* demostraron que el β -caroteno no es destruido por los microorganismos del rumen (Dawson y Hemington 1974; Mora y col., 1999). Las diferencias en la desaparición de carotenoides en el rumen pueden ser debidas a las características de la población microbiana, influida por las dietas integrales o pastoreos (Rode y col., 1990).

6.1.3. Desaparición de carotenoides en el intestino

Varios autores han reportado estudios sobre la desaparición y absorción de carotenoides en el intestino, tanto en humanos como en animales no rumiantes. Serrano y col. (2005) demostraron que existe una relación entre la disponibilidad de algunos los carotenoides, especialmente luteína y β -caroteno, en el intestino delgado aunque también se afecta el contenido de lignina, polisacáridos y proteínas resistentes en vegetales verdes.

En el presente estudio se observaron patrones diferentes de desaparición de los carotenoides del pasto Estrella cuando se introdujeron las bolsas duodenales en el intestino delgado sin incubarlas previamente en el rumen, en comparación con las bolsas incubadas en el rumen. Se observó una desaparición de 53% (Tabla 6) de carotenoides en las bolsas no incubadas e introducidas en el intestino delgado. En cambio, en las bolsas incubadas previamente en el rumen, aquellas con más tiempo de incubación contenían menos carotenoides y, por lo tanto, la desaparición en el intestino delgado se redujo ($P < 0.001$) (Tabla 6) (Anexo 11).

Existen varios factores fisiológicos que influyen en la liberación de los carotenoides contenidos en la matriz del forraje, entre estos las características de las dietas ingeridas, los movimientos peristálticos del canal gastrointestinal y la formación de micelas lipídicas (VanVliet, 1996). En general, los carotenoides totales están presentes en los complejos de proteínas o como una estructura semicristalina y son transferidos o disueltos en la fase lipídica antes de que se absorban (Yeum y Russell, 2002). Estos resultados se han obtenido de estudios en no rumiantes y en humanos (VanVliet, 1996), pero en los rumiantes este mecanismo no se ha dilucidado, probablemente se podría presentar alguna especificidad como consecuencia del metabolismo ruminal de los lípidos de la dieta, lo que podría inducir una modificación en la composición de los lípidos que entran en el duodeno y las secreciones biliares, influyendo en la composición de carotenoides en el tracto digestivo (Noziere y col., 2006). En la literatura se indica que la absorción intestinal de los carotenoides varía entre 0.08 a 0.6% (Yang y col., 1992; Cardinault y col., 2006; Noziere y col., 2006).

Tabla 6. Desaparición de carotenoides totales en *Cynodon plectostachyus* en el canal digestivo de novillos Holstein

Incubación ruminal (h)	Degradabilidad de carotenoides (%)		
	Rumen	Post-ruminal	Total del canal
0	-----	0.532 ± 0.097 ^a	0.532 ± 0.097 ^a
12	0.437 ± 0.095 ^{a (*)}	0.278 ± 0.086 ^b	0.717 ± 0.101 ^b
24	0.570 ± 0.062 ^b	0.192 ± 0.043 ^c	0.762 ± 0.096 ^b
48	0.639 ± 0.079 ^{b,c}	0.214 ± 0.049 ^{b,c}	0.852 ± 0.096 ^{b,c}
72	0.715 ± 0.055 ^c	0.221 ± 0.018 ^{b,c}	0.934 ± 0.049 ^c

(*) Medias con superíndices diferentes en la misma columna difieren ($\Pi < 0.05$)

El tiempo de incubación es un factor que contribuye a la variación en la biodisponibilidad de los carotenoides; en muestras que no se incubaron, solamente 53.2% de los carotenoides desapareció y 46.8% se excretó en la materia fecal. Posteriormente, al incubar el pasto Estrella de 12 a 72 h, los carotenoides desaparecieron progresivamente en el rumen y en el intestino delgado ($P < 0.0001$). Los resultados hacen suponer un ataque de microorganismos ruminales a la MS y, en consecuencia, ocurre mayor disponibilidad y desaparición de los carotenoides. Esto ocasionó que la desaparición de carotenoides alcance 93.4% cuando las bolsas fueron incubadas por 72 h (Tabla 6) (Anexo 12). Es posible que en paralelo ocurriera un cambio químico de los carotenoides en el rumen relacionado con reacciones parciales de hidrogenación, sin llegar a una saturación de las dobles ligaduras (Bloomfield, 1997). A mayores tiempos de incubación de la muestra en el rumen, es posible que la digestión del material celulósico permitiera la liberación de mayores cantidades de carotenoides en el medio; por tanto se retuvieron menos en las muestras del forraje. El introducir las bolsas previamente incubadas al intestino delgado, registró menor porcentaje de desaparición ($P > 0.05$).

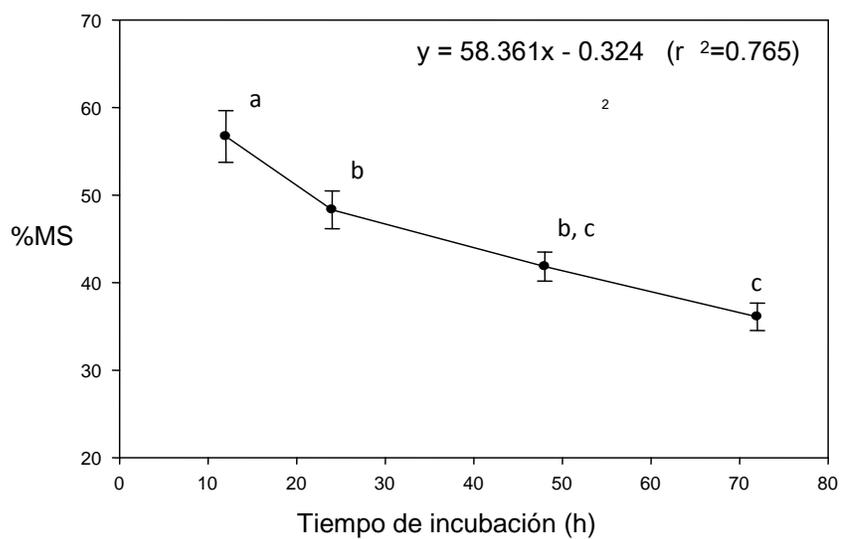
Los resultados obtenidos en el presente estudio mostraron que la disponibilidad de total de carotenoides fue mayor a 0.70 de la ingesta, cuando las muestras fueron incubadas en el

rumen. No se han encontrado reportes en la bibliografía acerca de la disponibilidad aparente de carotenoides totales en rumiantes, medidos por la técnica de las bolsas de móviles. Por el contrario, los resultados publicados sobre la digestibilidad de los carotenoides son controversiales. Algunos autores mencionan bajas digestibilidades aparentes (0.15) en ovejas o vacas, dado el origen natural o sintético de los carotenoides (Hoppe y col., 1972; Fernández Cohen y col., 1976; Kumar y col., 1981). Otros han reportado mejor digestibilidad aparente de carotenoides (0.55) (Wing, 1969; Mora y col., 2001). Sin embargo, en todos los estudios encontrados en la literatura no se menciona las proporciones de carotenoides específicos que pudieron existir en las dietas administradas, lo que puede explicar la divergencia de resultados entre los estudios.

6.2. Segunda Parte. Digestibilidad *in vitro* y estudio del metabolismo digestivo con dosificación de caroteno e infusión de pectina vía duodenal

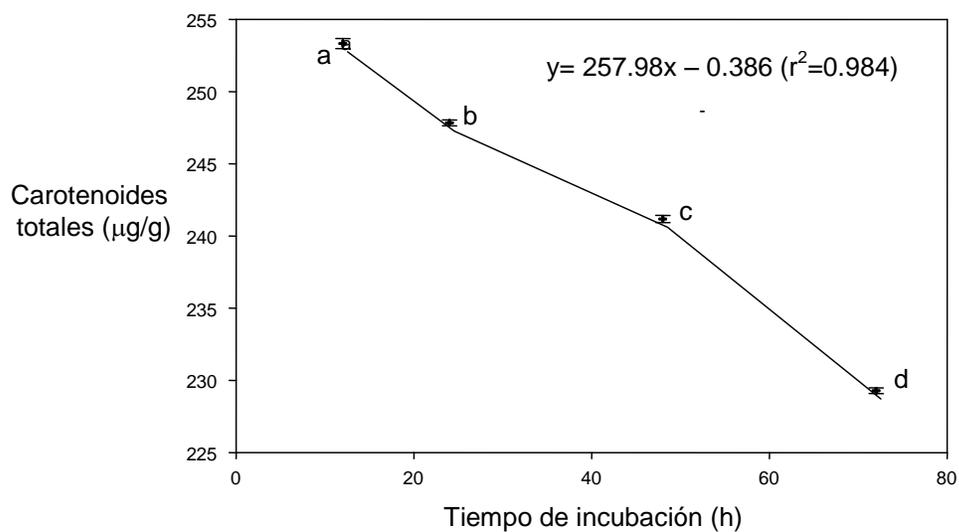
6.2.1. Digestibilidad *in vitro* de la alfalfa

La digestibilidad *in vitro* de MS (Figura 17) y de carotenoides totales (Figura 18) de alfalfa disminuyó al aumentar el tiempo de incubación, con un coeficiente de correlación $r=0.87$ ($P<0.001$) (Anexo 13). La ecuación obtenida para la desaparición de carotenoides en alfalfa en relación a los tiempos de incubación, explicó el 98% de la variación de este fenómeno, mientras que sólo se explicó el 76% en el caso de la MS ($r^2=0.76$), lo que podría significar que los microorganismos hidrolizaron los carbohidratos que constituyen parte de la MS del sustrato y en consecuencia se presentó la liberación de los carotenoides. Como ya se discutió en el inciso 6.1.2, la desaparición de carotenoides y MS están correlacionados; en la medida que desaparece la MS, los carotenoides también lo hacen. Este mismo forraje fue utilizado posteriormente como alimento para las pruebas metabólicas.



Letras diferentes muestran diferencia entre horas de incubación (P<0.05).

Figura 17. Desaparición de MS de alfalfa en el rumen de novillos Holstein



Letras diferentes indican diferencia entre tiempos de incubación (P<0.05).

Figura 18. Desaparición en el rumen de carotenoides totales de alfalfa

6.2.2. Metabolismo digestivo de nutrientes y pigmentos

Debido a que el suministro de alimento se restringió con base en el peso vivo vacío, no se presentaron rechazos. Los animales mostraron un buen estado de salud y bienestar durante los muestreos. En la Tabla 7 se resume la concentración promedio de ácidos grasos volátiles y pH en el contenido ruminal. Estos valores se encontraron dentro de los intervalos fisiológicos normales, indicando que durante el desarrollo del trabajo experimental los animales tuvieron una función adecuada del canal gastrointestinal.

La Tabla 8 muestra el consumo de nutrientes durante los cuatro periodos experimentales de la prueba metabólica en bovinos dosificados con diferentes concentraciones de pectina vía duodenal (Inciso 5.2.2.3).

Tabla 7. Concentración promedio de ácidos grasos volátiles y pH en el contenido ruminal de novillos Holstein

Ácidos grasos volátiles	Concentración * (mol/100 moles)
Acético	57.12 \pm 4.16
Propiónico	11.54 \pm 3.59
Butírico	4.32 \pm 1.54
pH	6.2 \pm 0.75

* valor medio de 16 determinaciones. Valores son medias \pm DE

Tabla 8. Consumo de nutrientes y pigmentos durante los periodos de la prueba metabólica en novillos Holstein recibiendo tres niveles de pectina cánula duodenal

	Periodo 1	Periodo 2	Periodo 3	Periodo 4
Peso corporal, kg	462.5	462.5	462.5	462.5
Consumo (g/día):				
Materia seca	9622.80	9616.20	9633.80	9603.00
Materia orgánica	7403.91	7418.31	7423.11	7383.74
Proteína	1877.38	1871.75	1969.57	1872.58
Fibra detergente neutra	6491.88	6479.14	6475.30	6482.98
β -caroteno*	2.97	2.97	2.97	2.97
Clorofila a**	1.06	1.06	1.06	1.06
Clorofila b**	0.52	0.52	0.52	0.52

* Administrado directamente en la cánula ruminal

** Concentración determinada en el forraje suministrado

Los resultados de la prueba metabólica se describieron en las regiones pregástricas y postgástricas del canal digestivo. En la Tabla 9 se resumen los datos que describen el flujo de nutrientes cuantificados del duodeno al recto (flujo postruminal).

Tabla 9. Flujo de nutrientes y pigmentos de duodeno a recto (digestibilidad postruminal) en novillos Holstein recibiendo diferentes concentraciones de pectina vía cánula duodenal

Flujo postruminal / día		Inclusión de pectina (%)				EEM
		0	0.004	0.01	0.02	
Materia seca	g	2577.9 ^a	3170.2 ^a	2398.2 ^a	3055.6 ^a	203.7
	%	29.2 ^a	36.1 ^a	27.1 ^a	34.4 ^a	2.3
Materia orgánica	g	1616.1 ^a	1986.8 ^a	1512.9 ^a	1905.6 ^a	122.9
	%	32.8 ^a	40.6 ^a	30.2 ^a	38.4 ^a	2.6
Proteína	g	81.8 ^a	106.1 ^a	78.8 ^a	98.4 ^a	6.2
	%	17.6 ^a	22.1 ^a	16.5 ^a	21.5 ^a	1.3
FDN	g	1066.2 ^a	1236.9 ^a	1001.1 ^a	1277.1 ^a	93.5
	%	42.9 ^a	51.3 ^a	39.4 ^a	50.2 ^a	3.9
β-caroteno	g	0.1 ^b	0.2 ^b	0.2 ^b	0.5 ^a	0.02
	%	13.2 ^b	19.2 ^b	14.9 ^b	29.2 ^a	1.8
Clorofila a	g	0.1 ^a	0.1 ^a	0.1 ^a	0.1 ^a	0.01
	%	20.9 ^a	24.0 ^a	19.2 ^a	23.1 ^a	3.4
Clorofila b	g	0.08 ^b	0.3 ^a	0.3 ^a	0.3 ^a	0.058
	%	5.8 ^b	23.3 ^a	17.9 ^a	22.4 ^a	4.08

^{a,b} Medias con superíndices diferentes en el mismo renglón difieren (P<0.05)

EEM - Error estándar de la media

* Cantidad determinada del β-caroteno administrado directamente a través de la cánula ruminal

No hubo diferencias con respecto a la materia seca, materia orgánica, proteína y FDN entre los cuatro tratamientos ($P>0.05$) (Anexo 14). Sin embargo, se presentaron diferencias entre los tratamientos en el flujo de β -caroteno y de clorofilas a y b ($P<0.05$). El suministro de 0.02% de pectina directamente al duodeno duplicó (13.2 vs. 29.2%) la excreción de β -caroteno con respecto al grupo testigo. Estos resultados confirman una correlación positiva entre la excreción de β -caroteno y la dosis de pectina administrada ($r = 0.95$, $P<0.05$). No se detectaron diferencias entre los tratamientos con respecto a la excreción de clorofila a. La clorofila b incrementó ($P<0.001$) su excreción de 3 a 4 veces (5.8% vs. 23.3, 17.9 y 22.4%) con la infusión de pectina en el duodeno.

La Tabla 10 muestra los datos del flujo de nutrientes del alimento consumido a las heces (digestibilidad total). La materia seca, materia orgánica, proteína y FDN no mostraron diferencias entre los tratamientos ($P>0.05$) (Anexo 15). La excreción de β -caroteno tuvo un comportamiento similar al observado en el flujo de nutrientes registrados a nivel postruminal. Considerando al alimento ingerido, la excreción de β -caroteno incrementó cuatro veces (10.7 vs. 40.6%, $P<0.01$) con la dosis de 0.02% de pectina; la correlación entre la dosis de pectina y la excreción de β -caroteno en el canal digestivo total fue 0.912 ($P<0.0007$). El efecto antagónico en la absorción del β -caroteno se asoció con la cantidad de pectina administrada, posiblemente el mayor contacto de la pectina con el sustrato ocasionó el bloqueo en la absorción y, en consecuencia, su excreción. El otro factor vinculado a esta observación fue el alto grado de metoxilación de la pectina empleada. La concentración de la clorofila a no presentó diferencias significativas entre los tratamientos, sin embargo la excreción de la clorofila b fue mayor con las diferentes dosis de pectina administrada (1.0 vs. 3.2, 3.1, 3.0; $P<0.0001$); posiblemente la estructura de ésta última facilite su captura por la pectina y, en consecuencia, su excreción.

Tabla 10. Flujo de nutrientes y pigmentos de la ingesta del alimento a heces (digestibilidad total) en novillos Holstein recibiendo diferentes concentraciones de pectina vía cánula duodenal

Flujo total / día		Niveles de pectina (%)				EEM
		0	0.004	0.01	0.02	
Materia seca	g	2375.9 ^a	2394.1 ^a	2039.6 ^a	2152.1 ^a	207
	%	26.6 ^a	26.8 ^a	23.1 ^a	24.1 ^a	2.3
Materia orgánica	g	1376.6 ^a	1386.0 ^a	1196.3 ^a	1234.3 ^a	107.9
	%	24.6 ^a	24.7 ^a	21.5 ^a	22.2 ^a	2
Proteína	g	49.7 ^a	55.7 ^a	45.9 ^a	46.5 ^a	4.9
	%	17.5 ^a	18.6 ^a	15.7 ^a	16.1 ^a	1.6
FDN	g	788.0 ^a	700.0 ^a	689.5 ^a	788.0 ^a	70.8
	%	21.3 ^a	20.1 ^a	18.7 ^a	19.6 ^a	1.9
Grasa	g	0.355 ^b	1.930 ^a	1.381 ^a	1.713 ^a	0.154
	%	10.583 ^b	25.355 ^a	19.981 ^a	22.634 ^a	1.501
β-caroteno	g	0.05 ^b	0.1 ^b	0.1 ^b	0.6 ^a	0.038
	%	10.7 ^b	15.2 ^b	14.5 ^b	40.6 ^a	1.9
Clorofila a	g	0.0005 ^a	0.0003 ^a	0.0004 ^a	0.0003 ^a	0.0001
	%	0.14 ^a	0.11 ^a	0.12 ^a	0.11 ^a	0.02
Clorofila b	g	0.004 ^b	0.03 ^a	0.03 ^a	0.03 ^a	0.008
	%	1.0 ^b	3.2 ^a	3.1 ^a	3.0 ^a	0.6

^{a,b} Medias con superíndices diferentes en el mismo renglón difieren (P<0.05)

EEM - Error estándar de la media

* Cantidad determinada del β-caroteno administrado directamente en la cánula ruminal

No hubo diferencias significativas (P>0.08) en la tasa de digestión de materia seca, materia orgánica, proteína y FDN en la digestión postruminal (Tabla 11) (Anexo 16), en donde el β-caroteno disminuyó con la administración de la pectina vía duodenal (P<0.05). Las concentraciones de β-caroteno disminuyeron 30.8, 38.5 y 46.1% con respecto al testigo en los tratamientos con 0.004, 0.01 y 0.02% de pectina, respectivamente. Se ha reportado que

la pectina induce la fermentación en la parte anterior y posterior del intestino en cerdos en crecimiento (Zhu, 2003), lo que pudo haber ocurrido también en este experimento, ya que la pectina ocasiona un aumento en la viscosidad de la digesta y, por tanto, en la tasa de pasaje. Por otro lado, la pectina es muy eficiente para retener agua y, por tanto, aumentar la tasa metabólica de la microbiota durante la fermentación (Johansen y col., 1996). Es posible que este efecto ocurriera en el presente trabajo al incluir porcentajes altos de pectina (0.01 y 0.02%), lo que se relaciona a los resultados presentados por McCullogh y col. (1998) y Stark y col. (1996) quienes mencionan que el consumo de pectina tiene un efecto tanto directo como indirecto en la población microbiana intestinal, ocasionando una hipertrofia en el intestino delgado, además de un mayor grosor en la capa muscular y mucosa intestinal.

Con respecto al efecto de la inclusión de pectina en el flujo de proteína, Zhu (2003) observó que la administración de este carbohidrato en el alimento tiene efectos muy bajos o nulos en la digestibilidad de los aminoácidos, a la vez que incrementa la pérdida de nitrógeno endógeno. En el caso del presente estudio no se observó este efecto, ya que no se afectó ni el flujo ni la digestión del nitrógeno (Tabla 11). Otros autores mencionan que la infusión de pectina por abomaso puede reducir la excreción de nitrógeno urinario en rumiantes (Mason y col., 1981; Gressley y Armentano, 2005) y mitigar la toxicidad del amonio ocasionado por exceso en el consumo de urea, lo que ocasiona una alta tasa de fermentación y propiedades acetato-estimulantes (Wing, 1982).

A mayor dosis de pectina (0.02%) disminuyó la absorción y aumentó la excreción de β -caroteno, lo que no ocurrió con las dosis baja y media de pectina. La clorofila a y b no se afectó en ninguna de las dosis.

Tabla 11. Digestión de nutrientes y absorción de pigmentos de duodeno a recto (digestión postruminal) en novillos Holstein recibiendo diferentes concentraciones de pectina vía cánula duodenal

digestibilidad postruminal/día		Nivel de pectina (%)				EEM
		0	0.004	0.01	0.02	
Materia seca	g	6231.9 ^a	5633.7 ^a	6469.6 ^a	5836.0 ^a	204.7
	%	70.7 ^a	63.8 ^a	72.9 ^a	65.5 ^a	2.3
Materia orgánica	g	3327.8 ^a	2912.9 ^a	3505.7 ^a	3128.4 ^a	125.1
	%	67.1 ^a	59.4 ^a	69.8 ^a	61.6 ^a	2.5
Proteína	g	383.0 ^a	373.5 ^a	402.0 ^a	359.56 ^a	8.6
	%	82.4 ^a	77.8 ^a	83.4 ^a	78.4 ^a	1.3
FDN	g	1445.8 ^a	1199.2 ^a	1546.5 ^a	1336.8 ^a	98.7
	%	57.0 ^a	48.7 ^a	60.5 ^a	49.8 ^a	3.9
β-caroteno	g	1.3 ^a	0.9 ^b	0.8 ^b	0.7 ^b	0.09
	%	86.8 ^a	85.0 ^a	80.5 ^a	70.8 ^b	1.8
Clorofila a	g	0.4 ^a	0.3 ^a	0.4 ^a	0.4 ^a	0.05
	%	79.1 ^a	75.7 ^a	80.7 ^a	76.8 ^a	3.3
Clorofila b	g	1.3 ^a	1.1 ^a	1.3 ^a	1.2 ^a	0.08
	%	94 ^a	76.7 ^a	82.2 ^a	77.6 ^a	4.08

^{a,b} Medias con superíndices diferentes en el mismo renglón difieren (P<0.05)

EEM - Error estándar de la media

* Cantidad determinada del β-caroteno administrado directamente en la cánula ruminal

Se ha estudiado el efecto de varios carbohidratos como la pectina por varios autores como Kim y col. (2007) quienes reportan que la pectina contenida en la pulpa cítrica seca es rápidamente degradada por las bacterias ruminales, mejorando la utilización de nitrógeno y teniendo efecto en la conformación de los rumiantes. Sin embargo, esta respuesta depende de la forma en que el nitrógeno se suplementa en la dieta. En cerdos, la pectina en la dieta

puede incrementar la pérdida de proteína endógena, lo que puede deberse a la pérdida del epitelio celular y al incremento de nitrógeno endógeno ileal (Zhu y col., 2005). Sin embargo, en esta situación se puede aumentar la capacidad de reabsorción intestinal y contrarrestar esta pérdida. El reciclamiento del nitrógeno endógeno puede incrementar el primer paso de catabolismo de aminoácidos en el hígado y, posiblemente, en el tejido intestinal (Nyachoti y col., 1997; Fuller y Reeds, 1998). Por lo tanto, la secreción endógena de nitrógeno en la digesta representa una pérdida al animal; la pectina administrada puede incrementar esta secreción (Zhu y col., 2005). Esta respuesta no fue observada en nuestro experimento, posiblemente por que la dosis más alta de pectina infundada (0.02% de pectina en base al PV del animal) no causa pérdida del nitrógeno amínico.

Si este proceso ocurre en no rumiantes, el incremento del catabolismo está asociado con una pérdida de nitrógeno endógeno, lo que ocurre con preferentemente en la treonina que en la lisina. Por tanto, la treonina favorece la secreción de proteína intestinal endógena a través de la mucosidad (Lien y col., 1997).

Se ha reportado que algunos tipos de bacterias están presentes en el estómago y en la parte posterior del intestino delgado (Fuller y Reeds, 1998), el incremento de la masa microbiana fue observada en el ileum distal de cerdos cuando el nivel de pectina en la dieta se incrementa (Conway, 1994; Fuller y Reeds, 1998; Zhu, 2003). Zhu y col. (2005) observaron una alta correlación entre la desaparición de treonina y FDN ileal con la administración de pectina, sugiriendo que la pectina administrada en el alimento estimula la pérdida endógena de aminoácidos del intestino, posiblemente vía estimulación de la fermentación microbiana. Sin embargo, la información al respecto es muy escasa para rumiantes.

Hedemann y col. (2006) mencionan a la pectina como una fuente de fibra soluble dietas de cerdos; estos autores encontraron que la administración de pectina disminuyó ADFI y GDP, comparado a dos grupos de cerdos alimentados con y sin pectina. Las vellosidades y las criptas fueron más cortas en cerdos que se alimentaron con pectina, además que disminuyó el área de mucina en las criptas del intestino delgado.

En el presente estudio no se presentaron diferencias en la digestibilidad de las clorofilas a y b. Los promedios totales de digestibilidad para los tratamientos en estas clorofilas fueron de

78 y 82.6%, respectivamente. No se han encontrado trabajos publicados con respecto a la digestibilidad de estos pigmentos en rumiantes, lo que queda claro es que la dosis de 0.02% de pectina captura β -carotenos; las posibles razones pueden ser que la cantidad mayor de pectina infundida recubra la mayor parte del quimo alimenticio y dificulte la acción de los jugos gástricos, jugos biliares y pancreáticos que facilitan los procesos de absorción. Otra causa podría deberse a que la pectina se adhiera momentáneamente a epitelio vellositario y evite la absorción de los β -carotenos.

La Tabla 12 presenta la digestión de nutrientes y absorción de pigmentos de la ingesta del alimento a heces (digestibilidad total). No se presentaron diferencias en la materia seca, materia orgánica, proteína y FDN (Anexo 17). Es de notarse que el porcentaje de la digestión total de las grasas disminuyó ($P < 0.05$) con la infusión de pectina, aún en la menor dosis administradas directamente en el duodeno. Gressley y col. (2011), administrando por vía abomasal infusiones de 1 kg/día de pectina o fructanos a vacas lactantes, observaron una disminución en la digestibilidad de la dieta y en el porcentaje de grasa en la leche sin afectar el pH fecal o las concentraciones de ácidos grasos volátiles. Estos autores atribuyeron la disminución de la digestibilidad de la dieta al aumento de volumen en el tracto digestivo o la tasa de pasaje en la digesta que redujo la exposición de la digesta a las enzimas intestinales y a las vellosidades epiteliales; por el mismo mecanismo explicaron la disminución en la concentración de ácidos grasos de cadena larga en la leche. Las infusiones de fructano (1 g/kg de peso corporal) al nivel abomasal en novillos dió lugar a heces acuosas, disminución de pH fecal y aumento en concentraciones fecales de AGV, sin provocar una respuesta inflamatoria.

Se observó diferencia en la absorción de β -caroteno a 0.02% de pectina ($P < 0.004$) (66.7%). Las dosis baja e intermedia de pectina no afectaron la absorción total de β -caroteno, sin embargo, se presentó una tendencia a disminuir la digestibilidad entre 44.5 y 55.5%. Rock y Swendseid (1992), realizando estudios en humanos al administrar pectina en un ingesta alimentaria diaria con β -caroteno, encontraron una disminución de β -caroteno en plasma sanguíneo entre 30 y 192 h después del suministro de pectina.

Tabla 12. Digestión de nutrientes y absorción de pigmentos de la ingesta del alimento (digestibilidad total) en bovinos recibiendo diferentes concentraciones cantidades de pectina vía cánula duodenal

digestibilidad postruminal/día		Nivel de pectina (%)				EEM
		0	0.004	0.01	0.02	
Materia seca	g	6550.0 ^a	6523.6 ^a	6814.5 ^a	6764.2 ^a	219
	%	73.3 ^a	73.2 ^a	76.9 ^a	75.8 ^a	2.3
Materia orgánica	g	4218.2 ^a	4198.5 ^a	4393.6 ^a	4337.0 ^a	136
	%	75.4 ^a	75.2 ^a	78.5 ^a	77.8 ^a	2
Proteína	g	233.7 ^a	244.6 ^a	243.6 ^a	241.6 ^a	7
	%	82.4 ^a	81.4 ^a	84.2 ^a	83.8 ^a	1.6
FDN	g	2899.3 ^a	2759.6 ^a	3002.6 ^a	2977.9 ^a	85.1
	%	78.6 ^a	79.8 ^a	81.3 ^a	80.4 ^a	1.8
Grasa	g	2.93 ^b	5.74 ^a	5.56 ^a	5.76 ^a	0.41
	%	89.41 ^a	74.64 ^b	80.01 ^b	77.36 ^b	1.50
β-caroteno	g	0.9 ^a	0.5 ^a	0.4 ^a	0.3 ^b	0.05
	%	89.3 ^a	84.8 ^a	85.8 ^a	59.3 ^b	1.9
Clorofila a	g	0.3 ^a	0.3 ^a	0.3 ^a	0.3 ^a	0.02
	%	99.8 ^a	99.8 ^a	99.8 ^a	99.8 ^a	0.01
Clorofila b	g	0.3 ^b	0.9 ^a	0.9 ^a	0.9 ^a	0.1
	%	96.7 ^b	96.8 ^a	97.0 ^a	98.9 ^a	0.6

^{a,b} Medias con superíndices diferentes en el mismo renglón difieren (P<0.05)

EEM - Error estándar de la media

* Cantidad determinada del β-caroteno administrado directamente en la cánula ruminal

La absorción y el metabolismo del β-caroteno varía entre los humanos y otros mamíferos como los bovinos, hurón y monos Rhesus. Una cantidad apreciable de carotenoides pasa a través de la mucosa celular y es incorporada en los quilomicrones. Específicamente, el β-

caroteno en el plasma parece estar asociado principalmente con la baja densidad de la fracción de lipoproteínas; en este caso, la pectina es un tipo de fibra dietética con efecto inhibitorio sobre el β -caroteno en plasma sanguíneo (Zanutto y col. 2002). Otros trabajos relacionados al tema muestran que la hemicelulosa, la lignina y la pectina, administradas al 7% de la dieta, reducen las concentraciones de vitamina A en el hígado, comparada con la dieta control. La alta concentración de metoxilos en la pectina de manzana provoca una reducción en el β -caroteno sanguíneo (Erdman y col. 1986). La pectina usada en el presente estudio presentó alto grado de metoxilación, lo cual hace suponer que puede ser eficiente en la disminución de β -caroteno en plasma sanguíneo.

La pectina empleada tiene 8.4% de grupos metoxilo, 87% como ácido anhidrouónico y GM=56%. Generalmente, las pectinas obtenidas de cítricos tienen GM 50 a 65% (Britton, 1995). Esta pectina forma geles a pH ácido (pH 2.0 a 3.5); en esta situación, los grupos carboxilo del ácido galacturónico permanecen no disociados, lo que evita la repulsión entre ellos (Jane, 2000). Al ser suministrada la pectina vía duodenal, y debido a la presencia de compuestos hidrofílicos en el duodeno, tales como polipéptidos, péptidos y oligopéptidos; además del pH (3.5 a 4.0) en el medio, se presentaron las condiciones adecuadas para la formación de geles "lentos" de pectina (Inciso 2.6.1). La viscosidad en el tracto gastrointestinal incrementó al gelificar la pectina; en estas condiciones de viscosidad, las sales biliares formaron un gel en el contenido intestinal evitando la formación de micelas y limitan la absorción del β -caroteno y lípidos solubles de la dieta (Erdman y col., 1986).

La interacción de la red de pectina con el β -caroteno, la cual evita su absorción a nivel intestinal, no es clara. Sin embargo, en función a las posibles interacciones electrostáticas entre los dos compuestos, es posible que ocurra un atrapamiento del β -caroteno en el gel, estabilizado por interacciones de tipo hidrofóbico entre los sustituyentes hidroxilo libres y los metilos de los anillos de β -ionona, debido a que hay un corrimiento de electrones desde el anillo hacia la cadena isoprenoide que permitiría una interacción débil entre estos sustituyentes, como lo reporta Armenta y Guerrero Legarreta (2009). Estos autores indican que, sin embargo, no todas las uniones de este tipo ocurren simultáneamente debido a impedimentos estéricos. Es de suponerse que esta interacción sea solamente electrostática, estabilizada por fuerzas muy débiles. La Figura 19 muestra una posible interacción entre

estas moléculas. Por tanto, la interacción de la pectina y el β -caroteno es fundamentalmente de atrapamiento físico en el gel de pectina formado en el duodeno.

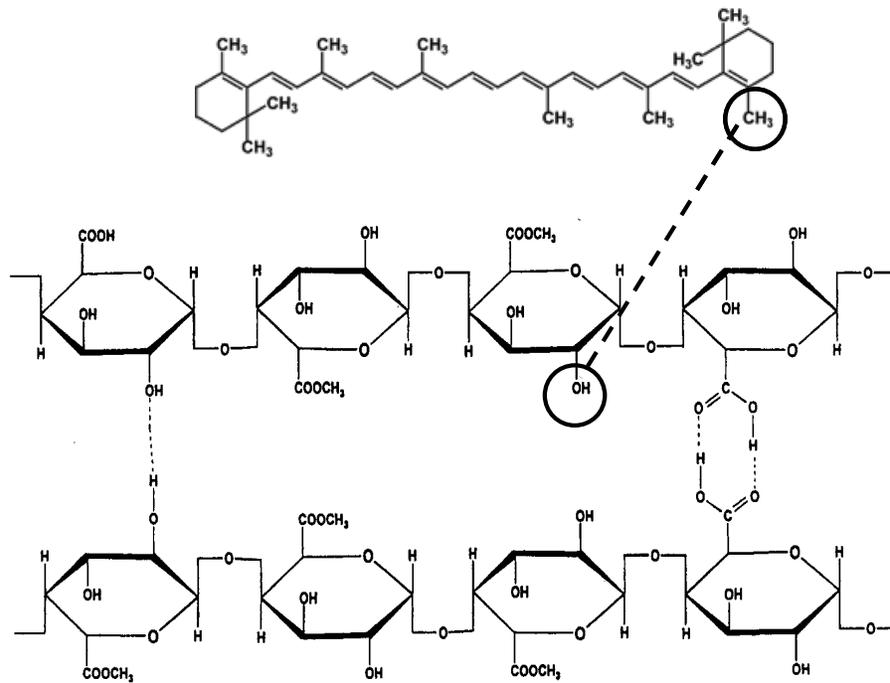


Figura 19. Posible interacción entre pectina y β -caroteno

Por otra parte, y debido a que los carotenoides son moléculas hidrofóbicas con poca o nula solubilidad en agua, la interacción hidrofóbica que pudieran tener se restringe hacia el área de las células intestinales, aunque en presencia de la red de pectina, la interacción entre la pared intestinal y el β -caroteno sólo puede darse si la red de pectina es muy débil, como fue el caso de los porcentajes bajos de inclusión de pectina en la dieta de los animales (0.004 y 0.01%) en que hubo efecto de barrera por parte del gel, demasiado débil, en la absorción de β -caroteno (Tabla 12). Por el contrario, en una red de pectina fuerte, el β -caroteno fue atrapado sin que ocurriera movilidad de estas moléculas hacia la pared intestinal y, en consecuencia, no pudo darse una interacción hidrofóbica. Por tanto, se observó una diferencia significativa cuando se incluyó 0.02% en la dieta ($P < 0.01$). Los carotenoides de configuración *all-trans*, como el β -caroteno que se encuentra en los forrajes, son sistemas conjugado lineales, de moléculas rígidas. Sin embargo, cuando ingresan al tracto digestivo, una proporción considerable de estas dobles ligaduras cambian a la geometría *cis*, la cual

aumenta la solubilidad de las moléculas, asociándose con áreas hidrofóbicas en la proteína o con componentes de lípidos. La forma cis es mejor absorbida y transportada que la forma trans (Noziere y col. 2006).

En el presente experimento, parte del β -caroteno estuvo presente en el forraje y por tanto al ingresar al tracto intestinal pudo cambiar su geometría de trans a cis, aumentando su solubilidad y haciendo posible su interacción con la pectina a través de interacciones electrostáticas inducidas entre las ligaduras cis y los sustituyentes metoxilo. Aunque la mayor parte del β -caroteno se suministró vía cánula duodenal, conservó su configuración *all-trans*.

La digestibilidad de la clorofila a no presentó diferencia significativa ($P > 0.43$) entre los tratamientos; el promedio total de digestión de este compuesto fue 99.8%. Debido a su estructura no polar, las interacciones electrostáticas de la clorofila a con la pectina parecen poco probables. La única posible interacción pudiera ser el atrapamiento físico en el gel de pectina, lo que facilita la absorción de la clorofila a. Por otra parte, la absorción de la clorofila b aumentó tres veces en comparación con el tratamiento testigo ($P > 0.004$), aunque no hubo diferencias significativas entre los tratamientos con pectina.

La clorofila b contiene un grupo aldehído, sustituyente que puede interactuar en forma hidrofóbica con los grupos hidroxilo de la pectina, además de ser posible que fuera atrapado por la red de pectina y finalmente excretada. Esto hace que la clorofila b fuera menos absorbida que la clorofila a. La Tabla 13 muestra la concentración de colesterol, la cual disminuyó al aumentar el porcentaje de pectina incluida en los tratamientos ($P < 0.0001$, $r = -0.92$) (Anexo 18).

Tabla 13. Colesterol total en sangre en novillos Holstein dosificados con diferentes concentraciones de pectina vía duodeno

Inclusión de pectina (%)				EEM
0	0.004	0.01	0.02	
1.67 ^a *	1.41 ^b	1.37 ^b	1.21 ^c	0.013

* mg/mL

^{a,b} Medias con superíndices diferentes en el mismo renglón difieren (P<0.05)

EEM - Error estándar de la media

El mecanismo por el cual la suplementación de pectina produce hipocolesteronemia no ha sido aclarado, aunque se sugiere que la pectina produzca un bloqueo en la absorción del colesterol o una disminución de la circulación entero-hepática, en ambos casos se interfiere con la absorción de ácidos biliares. Estos posibles mecanismos han sido estudiados en suero e hígado de ratas (Leveille y Sauberlich, 1988), en pollos (Erdman y col., 1986; Brown y col., 1989) y en humanos (Jenkins y col., 1975; Rock y Swendseid, 1992). Los resultados obtenidos en ratas indican que los niveles bajos de pectina en plasma e hígado son debido a la inhibición en la absorción de los ácidos biliares y éstos a la vez reducen la absorción del colesterol (Rock y Swendseid, 1992). También se ha sugerido que el aumento de viscosidad debido a la formación de geles por algunos polisacáridos como la pectina, ocasiona un retraso el vaciado gástrico, propiciando una interferencia con la formación de las micelas necesarias para la absorción de β -caroteno. En particular, las pectinas de alto índice de metoxilo están asociadas con efectos hipocolesterolémicos a través de la generación de condiciones de alta viscosidad (Erdman y White, 1986). En humanos, las dosis de 15 g de pectina diaria producen esta retención del vaciado gástrico. Bajo estas condiciones, la fibra soluble (pectina) es hidratada en el tracto gastrointestinal formando un gel que enlaza a los lípidos y al colesterol, interfiriendo con su absorción (Topping, 1991). Stark y Madar (1994) consideran que ciertos tipos de fibra digestible pueden interactuar con las sales biliares y los esteroides neutros, eliminándolos del organismo. La reducción de la glucosa y la insulina postprandial es otro mecanismo propuesto para explicar la interacción de la pectina sobre los lípidos sanguíneos en humanos. La insulina incrementa la biosíntesis del colesterol y las

proteínas de muy baja densidad. Al interactuar la fibra digerible con la insulina, impide que esta esté disponible para la síntesis de nuevos lípidos sanguíneos (Stark y col., 1991).

7. CONCLUSIONES

La degradabilidad *in situ* del pasto Estrella mostró una alta disponibilidad de carotenoides en el rumen, asociada estrechamente con la degradabilidad de la materia seca. Paralelamente se implementó la técnica de bolsas móviles introducidas directamente al duodeno para estudiar la degradabilidad de los carotenoides de este pasto en el intestino delgado, técnica no reportada anteriormente para este fin. Es importante que en futuros estudios se considere la tasa de degradabilidad de carotenoides tomando en cuenta la época del año, y los estados fenológicos de los forrajes.

Hasta donde es de nuestro conocimiento, no se ha reportado previamente el efecto de la infusión de pectina en la reducción de la grasa amarilla de la canal de bovinos. En este estudio se demostró que, en animales canulados, la pectina agregada en el duodeno captura a los pigmentos del forraje, mayormente al β -caroteno y en menor medida a la clorofila, posiblemente debido a un atrapamiento físico en el gel de pectina de alto metoxilo formado, aunque es posible que se produzcan interacciones hidrofóbicas entre la pectina y estos pigmentos. Este atrapamiento evita su absorción en el intestino y en consecuencia su posible acumulación en el tejido adiposo, demeritando la calidad de la carne. Paralelamente, se observó que la pectina redujo el contenido del colesterol en suero sanguíneo en los animales suplementados. En futuros estudios se espera suministrar pectina en forma encapsulada, que evite su degradación por efecto microbiano.

8. BIBLIOGRAFÍA

- Abushita A.A., Daood H.G., Biacs P.A. 2000. Change in carotenoids and antioxidant vitamins in tomato as a function of varietal and technological factors. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 48:2075-2081.
- Ahrens W.A. 1994. *Herbicide Handbook*. Weed Science Society of America, Champaign, Illinois.
- Alcántara S., Sánchez S. 1999. Influence of carbon and nitrogen sources on *Flavobacterium* growth and zeaxanthin biosynthesis. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology* 23:697-700.
- Alosilla C.E, McDowell L.R., Wilkinson N.S., Staples C.R., Thatcher W.W., Martin F.G., Blair M. 2007. Bioavailability of vitamin A sources for cattle. *Journal of Animal Science* 85:1235-1238.
- Arango M.J. 2006. Análisis de expresión de los genes de la ruta biosintética de carotenos y cuantificación de carotenos en hojas y raíces de plantas de yuca a diferentes edades. Tesis de grado. Pontificia Universidad Javeriana. Facultad de Ciencias. Carrera de Biología. Bogotá. Colombia.
- Armenta López R.E., Guerrero Legarreta I. 2009. Stability studies on astaxanthin extracted from fermented shrimp byproducts. *Journal of Agriculture and Food Chemistry* 57:6095-6100.
- Armenta R.E., Guerrero Legarreta I. 2009. Amino acid profile and enhancement of the enzymatic hydrolysis of fermented shrimp carotenoproteins. *Food Chemistry* 112:310–315.
- Armstrong G.A. 1994. Eubacteria show their true colors: Genetics of carotenoid pigment biosynthesis from microbes to plants. *Journal of Bacteriology* 176:4795-4802.
- Armstrong G.A. 1997. Genetics of eubacterial carotenoid biosynthesis: A colorful tale. *Annual Reviews in Microbiology* 51:629-659.
- Armstrong G.A., Hears, J.E. 1996. Genetics and molecular biology of carotenoid pigment biosynthesis. *FASEB Journal* 10:228-237.
- Astorg P. 1997. Food carotenoids and cancer prevention: an overview of current research. *Trends in Food Science and Technology* 8:406-413.
- AOAC. 1990. *Official Methods of Analysis*. Association of Official Analytical Chemists. Washington, D.C.
- Arad S., Yaron, A. 1992. Natural pigments from red microalgae for use in foods and cosmetics. *Trends in Food Science and Technology* 3 :91.

- Baker N.R., Percival M.P. 1991. *Herbicides*. Elsevier. Amsterdam, Holanda.
- Brown E.D., Micozzi M.S., Craft N.E. 1989. Plasma carotenoids in normal men after a single ingestion of vegetables or purified β -carotene. *American Journal of Clinical Nutrition* 49:1258-1265.
- Barrón G.S., García B.C., Mora I.O., Shimada M.A. 2004. Impacto económico de la pigmentación del tejido adiposo en bovinos en pastoreo en el trópico. *Agrociencia* 38:173-179.
- Bartley G.E., Scolnik P.A. 1995. Plant carotenoids. Pigments for photoprotection, visual attraction and human health. *The Plant Cell* 7:1027-1038.
- Bendich A., Olson J.A. 1989. Biological actions of carotenoids. *FASEB Journal* 3:1927-1932.
- Berset C., Caniaux P. 1983. Relationship between color evaluation and chlorophyllian pigment content in dried parsley leaves. *Journal of Food Science* 48:1854-1857.
- Bertram J S. 1999. Carotenoids and gene regulation. *Nutrition Reviews* 6:182-191.
- Biesalski H.K., Grimm P. 2007. *Nutrición: Texto y atlas*. Editorial Panamericana, Madrid, España.
- Blot W.J., Li J-Y., Taylor P.R., Guo W., Dawsey S., Wang G-Q., Yang C.S., Zheng S-F., Gail M., Li G-Y., Yu Y., Liu B.G., Tangrea J., Sun Y-H., Liu F., Fraumeni J.F., Zhang Y.H., Li B. 1993. Nutrition intervention trials in Linxian, China: supplementation with specific vitamin/mineral combinations, cancer incidence, and disease-specific mortality in the general population. *Journal of the National Cancer Institute* 85:1483-1492.
- Boiteux M.F., Carvalho L.B. 2001. Biochemical diversity of carotenoids accumulation in cassava storage root. *Cassava Biotechnology Network*. St. Louis, Missouri.
- Bondi A.A. 1987. *Animal Nutrition*. Wiley-Interscience. Nueva York.
- Bowen P.E., Mobarhan, S., Smith, J.C. 1993. Carotenoid absorption in humans. *Methods in Enzymology* 214:3-16.
- Bloomfield, M. 1997. *Química de los Organismos Vivos*. Editorial LIMUSA, México D.F.
- Britton G. 1995. Structure and properties of carotenoids in relation to function. *FASEB Journal* 9:1551-1558.
- Brown M.S., Goldstein., J.L. 1974. Suppression of 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A reductase activity and inhibition of growth of human fibroblasts by 7-ketocholesterol. *Journal of Biological Chemistry* 249:7306-7314.
- Bruto J. 1991. *Pigmentos en los vegetales: clorofilas y carotenoides*. Van Nostrand-Reinhold. Nueva York.

- Burke J.D., Curran-Celentano J., Wenzel A.J. 2005. Diet and serum carotenoid concentrations affect macular pigment optical density in adults 45 years and older. *Journal of Nutrition* 135:1208-1214.
- Bush B.M. 1982. *Manual del Laboratorio Veterinario de Análisis Clínicos*. Editorial Acribia. Zaragoza, España.
- Cardinault, N., Doreau, M. and Nozière, P. 2004. Devenir des carotenoides dans le rumen. 11emes Rencontres Recherche Ruminants, p. 82.
- Cardinault N., Doreau M., Poncet C., Noziere P. 2006. Digestion and absorption of carotenoids in sheep given fresh red clover. *Animal Science* 82:49–55.
- Castenmiller J.J.M., West C.E. 1998. Bioavailability and bioconversion of carotenoids. *Annual Review of Nutrition* 18:19-38.
- Centro de Estadística Agropecuaria. 1998-1999. *Indicadores de Producción de Carne en Canal*. Secretaría de Agricultura, Ganadería y Desarrollo Rural. México D.F.
- Cerrullo G., Polli D., Lanzani G., Silvestri S., Hashimoto H., Codgell R. 2002. Photosynthetic light harvesting by carotenoids. Detection of an intermediate excited state. *Science*. 298:2395-2398.
- Chappell J .1995. The biochemistry and molecular biology of isoprenoid metabolism. *Plant Physiology* 107:1-6
- Childs S., Hennessy A.A., Sreenan J.M., Wathes D.C., Cheng Z., Stanton C., Diskin M.G., Kenny D.A. 2008. Effect of level of dietary n-3 polyunsaturated fatty acid supplementation on systemic and tissue fatty acid concentrations and on selected reproductive variables in cattle. *Theriogenology* 70:595-611.
- Clinton S.K. 1998. Lycopene: chemistry, biology and implications for human health and disease. *Nutrition Reviews* 56:35-51.
- Cohen-Fernandez S., Budowski P., Ascarelli I., Neumark H., Bondi A. 1976a. Low utilization of carotene by sheep. *International Journal for Vitamin and Nutrition Research* 46:446–453.
- Cohen-Fernandez S., Budowski P., Ascarelli I., Neumark H., Bondi A., 1976b. Pre-intestinal stability of betacarotene in ruminants. *International Journal for Vitamin and Nutrition Research* 46:439–445.
- Colby S.R., Humburg N.E., Lym R.G., Prasad R., Hill, E.R., Kitchen, L.M., McAvoy W.J. 1989. *Herbicide Handbook of the Weed Science Society of America*. 6ª edición. Champaign, Illinois.
- Conway P.L. 1994. Function and regulation of the gastrointestinal microbiota of the pig. *Proceedings VI International Symposium of Digestive Physiology in Pigs*. W.B. Souffrant y H. Hagemeister (compiladores). Research Institute for the Biology of Farm Animals, Dummerstorf, Alemania.

- Constenla D., Lozano J.E. 2003. Kinetic model of pectin demethylation. *Latin American Applied Research* 33:91-96.
- Copping L.G., Hewitt G.H. 1998. *Chemistry and Mode of Action of Crop Protection Agents*. The Royal Society of Chemistry. Cambridge, Inglaterra.
- Crouse J.D., Cross H.R., Seideman S.C. 1984. Effects of a grass or grain diet on the quality of three beef muscles. *Journal of Animal Science* 58:619-625.
- Cuniningham F. 2002. Regulation of carotenoid synthesis and accumulation in plants. *Pure and Applied Chemistry* 74:1409-1417.
- Cunningham F.X, Gantt E. 1998. Genes and Enzymes of carotenoid biosynthesis in plants. *Annual Reviews of Plant Physiology and Plant Molecular Biology* 49:557-583.
- Cunningham F.X., Pogson B., Sun Z., McDonald K., Della Penna D., Gantt E. 1996. Functional analysis of the β - and ϵ -lycopene cyclase enzymes of *Arabidopsis* reveals a mechanism for control of cyclic carotenoid formation. *The Plant Cell* 8:1613-1626.
- Daniel M.J., Dikeman M.E., Arnett A.M., Hunt M.C. 2009. Effects of dietary vitamin A restriction during finishing on color display life, lipid oxidation, and sensory traits of longissimus and Triceps brachii steaks from early and traditionally weaned steers. *Meat Science* 81:15–21.
- Davison K.L., Seo J., 1963. Influence of nitrate upon carotene destruction during *in vitro* fermentation with rumen liquor. *Journal of Dairy Science* 46:862–864.
- Dawson R.M.C., Hemington N. 1974. Digestion of grass lipids and pigments in the sheep rumen. *British Journal of Nutrition* 32:327–340.
- de Boer G., Murphy J.J., Kennelly J.J. 1987. Mobile nylon bag for estimating intestinal availability of rumen undegraded protein. *Journal of Dairy Science* 70:977–982.
- Del Villar A., Serrato A., Solano A., Arenas M., Quintero G., Sánchez L., Evangelista S., Jiménez R., García A., Vanegas E. 2007. Carotenoides en *Tagetes erecta* L.: la modificación genética como alternativa. *Revista Fitotecnia Mexicana* 30:109-118.
- Delgado-Vargas F., Jiménez A.R., Paredes-López O. 2000. Natural pigments: carotenoids, anthocyanins, and betalains. Characteristics, biosynthesis, processing and stability. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 40:173-289.
- Delgado-Vargas F, Paredes-López O. 2003. *Natural colorants for food and nutraceutical uses*. CRC Press. Boca Ratón, Florida.
- de Pee S., West C.E. 1996. Dietary carotenoids and their role in combating vitamin A deficiency: a review of the literature. *European Journal of Clinical Nutrition* 50:S38-S53.

- Devine M.D., Duke S.O., Fedtke C. 1993. *Physiology of Herbicide Action*. PTR Prentice-Hall. Nueva Jersey.
- Diamante C.B., Barlera S., Grazia F.M., Labarta B.V., Inrona, M., Tognoni, G. 2003. APO B gene polymorphisms and coronary artery disease: a meta-analysis. *Atherosclerosis* 167:355-366.
- Di Mascio P., Murphy M.E., Sies H. 1991. Antioxidant defense systems: the role of carotenoids, tocopherols and thiols. *American Journal of Clinical Nutrition* 53:194S-200S.
- Diplock A.T. 1995. Safety of antioxidant vitamins and beta-carotene. *American Journal of Clinical Nutrition* 62:510S-516S.
- Dunne P.G., O'Mara F.P., Monahan F.J., Moloney A.P. 2006. Changes in colour characteristics and pigmentation of subcutaneous adipose tissue and M. longissimus dorsi of heifers fed grass, grass silage or concentrate-based diets. *Meat Science* 74:231-241.
- Dunne P.G., Monahan F.J., O'Mara F.P., Moloney A.P. 2009. Colour of bovine subcutaneous adipose tissue: A review of contributory factors, associations with carcass and meat quality and its potential utility in authentication of dietary history. *Meat Science* 81: 28-45.
- El-Beitune P, Duarte G., Quintana S.M., Figueiró-Filho E.A., Vannucchi, H. 2003. Hipovitaminose A: cofator clínico deletério para o homem. *Medicina, Ribeirão Preto* 36:5-15.
- El-Gorab, M.I., Underwood B.A., Loerch J.D. 1975. The roles of bile salts in the uptake of β -carotene and retinol by rat everted gut sacs. *Biochimica et Biophysica Acta* 401:265-277.
- Englyst H.N., Kingman S.M., Cummings J.H. 1992. Classification and measurement of nutritionally important starch fractions. *European Journal of Clinical Nutrition* 46:33-50.
- Entrala B.A., Gil H.A. 2001. *Las vitaminas en la alimentación de los españoles*. Editorial Panamericana. Madrid, España.
- Erdman J.W., Bierer T.L., Gugger E.T. 1993. Absorption and transport of carotenoids. En: *Carotenoids in human health*. Annals of the New York Academy of Science, Vol. 691.
- Erdman W.J., Fahey C.G., Broich W.C. 1986. Effects of purified dietary fiber sources on β -carotene utilization by the chick. *Journal of Nutrition* 116:2415-2423.
- Ershoff B.H., Wells A.F. 1962. Effects of methoxyl content on anti-cholesterol activity of pectic substances in the rat. *Experimental Medical Surgery* 20:272-276.

- Fiems L.O., De Campeneere S. 1998. Effects of Extensification on Animal Performance, Carcass Composition and Product Quality: Proceedings of the Workshop. Melle-Gontrode, Bélgica.
- Folman Y., Ascarelli J., Herz Z., Rosenberg M., Davidson M, Halevi A.. 1979. Fertility of dairy heifers given a commercial diet free of 3- carotene. *British Journal of Nutrition* 41:353-359.
- Fraser P.D., Bramley P.M. 2004. The biosynthesis and nutritional uses of carotenoids. *Progress in Lipid Research* 43:228-265. No en texto
- Frazer P.D., Truesdale M.R., Bird C.R., Schuch W., Bramley P.M. 1994. Carotenoid biosynthesis during tomato fruit development. *Plant Physiology* 105:405-413. No en texto
- Franco Zavaleta, M., Jiménez Pichardo, R., Tomasini Campocosio, A., Guerrero Legarreta. I.. 2010. Astaxanthin extraction from shrimp wastes and its stability in two food systems. *Journal of Food Science* 75:C394-C399.
- Fredes Monsalves C., Loyola López N., Muñoz Cruz J.C. 2009. Extracción de pectinas de *Vitis labrusca* cv. Concord para producir jaleas. *IDESIA* 27:9-14.
- D'Addosio R., Páez G., Marín M., Mármol Z., Ferrer J. 2005. Obtención y caracterización de pectina a partir de la cáscara de parchita (*Passiflora edulis f. flavicarpa Degener*). *Revista Facultad de Agronomía (LUZ)* 22:241-251.
- Donald J., Yasar K., Jiwon J. 2001. Pectin degradation in ripening and wounded fruits. *Horticultural Science* 13:224-241.
- French P., O'Riordan E.G., Monahan F.J., Caffrey P.J., Vidal M., Mooney M.T., Troy, D.J., Moloney A.P. 2000. Meat quality of steers finished on autumn grass, grass silage or concentrate-based diets. *Meat Science* 56:173–180.
- Friedman P.J.1980. Bioquímica. Texto basico. Editorial Salvat. Barcelona, España.
- Fuller M.F., Reeds P.J. 1998. Nitrogen cycling in the gut. *Annual Review of Nutrition* 18:385–411.
- Furr H.C., Clark R.M., 1997. Intestinal absorption and tissue distribution of carotenoids. *Journal of Nutritional Biochemistry* 8:364–377.
- Garrett D.A., Failla M.L., Sarama R.J., 1999. Development of an *in vitro* digestion method to assess carotenoid bioavailability from meals. *Journal of Agriculture and Food Chemistry* 47:4301–4309.
- Garrido P.A., Teijon R.J.M. 2006. Fundamentos de Bioquímica Metabólica. Editorial Tebar. Madrid, España
- Glover J.1960.The conversion of beta-carotene into vitamin A. *Vitamines and Hormones* 18:371-386.

- Graham, R.D., Rosser, J.M. 2000. Carotenoid in staple foods: their potential improve human nutrition. *Food Nutrition Bulletin* 21:405-409.
- Gregory G.K., Chen T.S., Philip T. 1987. Quantitative analysis of carotenoids and carotenoid esters in fruits by HPLC: Red bell peppers. *Journal of Food Science* 52:1071-1073.
- Gressley T.F., Armentano L.E. 2005. Effect of abomasal pectin infusion on digestion and nitrogen balance in lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science* 88:4028–4044.
- Goodman D.S., Blomstrand R., Werner B. 1966. The intestinal absorption and metabolism of β -carotene in man. *Journal of Clinical Investigation* 45:1615-1623.
- Goodman S., Huang H.S. 1965. Biosynthesis of vitamin A with rat intestinal enzymes. *Science* 149:879-880.
- Gronowska-Senger A., Zreda A., Smaczny E. 1981. Effect of various fiber sources and fiber amounts on carotene utilization. *Food and Chemical Toxicology* 14:247-251.
- Grownowska-Sengaer A., Wolf G. 1970. Effect of dietary protein on the enzyme from rat and human intestine which converts beta-carotene into vitamin A. *Journal of Nutrition* 100:300-308.
- Guess B.W., Sholz M.C., Strum S.B., Lam R.Y., Johnson H.J., Jennrich R.I. 2003. La pectina como retardante del antígeno prostático-específico en hombres con cáncer de próstata: Fase II del estudio piloto. *Cáncer de Próstata. Prostatic Diseases* 6:3001-3004.
- Hampton R.D., Dimster–Denk D., Rine J. 1996. The biology of HMG-CoA reductase: the pros of contra-regulation. *Trends in Biochemical Science* 21:140-145.
- Harker M., Bramley P. 1999. Expression of prokaryotic 1-deoxy- β -Xylulose-5-phosphatases in *Echerichia coli* increases carotenoid and ubiquinone biosynthesis. *FEBS Letters* 448:115-119.
- Hathcock J.N. 1997. Vitamins and minerals: efficacy and safety. *American Journal of Clinical Nutrition* 66:427-437.
- Heinonen O.P., Albanes D. 1994. The effect of vitamin E and beta-carotene on the incidence of lung cancer and other cancers in male smokers. *The New England Journal of Medicine* 330:1029-1035.
- Hennekens C.H., Buring J.E., Manson J.E., Stampfer J., Rosner B., Cook N.R., Belanger C., LaMotte F., Gaziano J.M., Ridker P.M., Willet W., Peto R. 1996. Lack of effect of long-term supplementation with beta carotene on the incidence of malignant neoplasm and cardiovascular disease. *New England Journal of Medicine* 334: 1145-1149.
- Hendry G.A.F. 2000. Chlorophylls. En: *Natural Food Colorants*. G.J. Lauro y F.J. Francis (compiladores). Science and Technology. Basic Symposium Series. Marcel Dekker, Nueva York.

- Hinostroza G.C., Huberman A., De la Lanza G., Monroy-Ruiz E. 1997. Pigmentation of the rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) with oil extracted astaxanthin from the langostilla (*Pleuroncodes planipes*). *Archivos Latinoamericanos de Nutrición* 4:237-241.
- Hollander D., Ruble P.E. 1978. β -carotene intestinal absorption: bile, fatty acid, pH and flow rate effects on transport. *American Journal of Physiology* 235:E686-E691.
- Jackson C.L., Dreaden T.M., Theobald N.M. 2007. Pectin induces apoptosis in human prostate cancer cells: correlation of apoptotic function with pectin structure. *Glycobiology* 17:805-819.
- Jane J.L. 2000. Carbohydrates: basic concepts. En: *Food Chemistry. Principles and Application*. G.L. Christen y J. Scott Smith (compiladores). Science Technology System, West Sacramento, California.
- Jenkins D.J.A., Leeds A.R., Newton C., Cummings J.H. 1975. Effect of pectin, guar gum and wheat fibre on serum cholesterol. *The Lancet* 305:1116-1129.
- Johansen H.N., Knudsen K.E., Sandstrom B., Skjoth F. 1996. Effects of varying content of soluble dietary fibre from wheat flour and oat milling fractions on gastric emptying in pigs. *British Journal of Nutrition* 75:339-351.
- Johnson E.A., Schroeder W.A. 1995. Microbial carotenoids. *Advances in Biochemical Engineering* 53:119-178.
- Johnson E.A., Schroeder W.A. 1996. Biotechnology of astaxanthin production in *Phaffia rhodozyma*. En: *Biotechnology for Improved Foods and Flavors*. Symposium Series 637. American Chemical Society, Washington.
- Kaplan L.A., Lau J.M., Stein E.A. 1990. Carotenoid composition, concentrations and relationships in various human organs. *Clinical Physiology and Biochemistry* 8:1-10.
- Kay R.M., Truswell A.S. 1977. Effect of citrus pectin on blood lipids and fecal steroid excretion in man. *American Journal of Clinical Nutrition* 30:171-175.
- Khachik F., Beecher G.R., Smith J.C. 1995. Lutein, lycopene and their oxidative metabolites in chemoprevention of cancer. *Journal of Cell Biochemistry* 22:236-246.
- Khachik F., Spangler C.L., Smith J.C., Canfield L.M., Steck A., Pfander H. 1997. Identification, quantification, and relative concentrations of carotenoids and their metabolites in human milk and serum. *Analytical Chemistry* 69:1873-1881.
- Khan A.U., Kasha M. 1994. Singlet molecular oxygen in the Haber-Weiss reaction. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 9(26):12365-12367.
- King T.J., Khachik F., Bortkiewicz H., Fukushima L.H., Morioka S., Bertram J.S. 1997. Metabolites of dietary carotenoids as potential cancer preventive agents. *Pure and Applied Chemistry* 69:2135-2140.

- Kim M. 2002. The water-soluble extract of chicory affects rat intestinal morphology similarly to other non-starch polysaccharides. *Nutrition Research* 22:1299–1307.
- Knight T., Ridland M., Hill F., Death A., Wyeth T. 1993. Effects of stress and nutritional changes on the ranking of cattle on plasma carotene concentrations. *Proceedings of the New Zealand Society of Animal Production* 53:455-456.
- Kritchevsky S.B. 1999. β -carotene, carotenoids and the prevention of coronary heart disease. *Journal of Nutrition* 129:5-8.
- Labrada R., Caseley J.C., Parker C. 1996. Manejo de Melazas para Países en Desarrollo. FAO. Roma.
- Lammoglia M.A., Willard S.T., Oldham J.R., Randel R.D. 1996. Effects of dietary fat and season on steroid hormonal profiles before parturition and on hormonal, cholesterol, triglycerides, follicular patterns, and postpartum reproduction in Brahman cows. *Journal Dairy Science* 74 (9): 2253-2262.
- Lee M., Sharopova N., Beavis W.D., Grant D., Katt M., Blair D., Hallaver A. 2002. Expanding the genetic map of maize with the intermated. B73 x Mol7 (IBM) population. *Plant Molecular Biology* 48:453-461.
- Leo MA., Shameem S., Aleynik s., Siegel J., Kasmin F., Lieber C. 1995. Carotenoids and tocopherols in various hepatobiliary conditions. *Journal of Hepatology* 23:550-556.
- Leveille G.A., Sauberlich E. 1988. Mechanism of the cholesterol-depressing effect of pectin in the cholesterol-fed rat. *Journal of Nutrition* 88:209-214.
- Lehninger, A. 1984. Bioquímica. Ediciones Omega. Zaragoza, España.
- Leveille G.A., Sauberlich H.E. 1966. Mechanism of the cholesterol-depressing effect of pectin in the cholesterol-fed rat. *Journal of Nutrition* 88:209-218.
- Lien K.A., Saber W.C., Fenton M. 1997. Mucin output in ileal digesta of pigs fed a protein-free diet. *Zeitschrift für Ernährungswissenschaft* 36:182–190.
- Lin T.M., Kim K.S., Karvinen E., Ivy A.C. 1957. Effect of dietary pectin, 'protopectin' and gum arabic on cholesterol excretion in rats. *American Journal of Physiology* 188:66-78.
- Lima G.A.J. 1999. Evaluación del efecto que generan dos procesos de producción de azúcar blanco (Proceso blanco directo y proceso blanco cristal) sobre el color del azúcar producida en un ingenio azucarero guatemalteco. Tesis, Universidad de San Carlos de Guatemala, Facultad de Ingeniería. Guatemala.
- Livingston A.L., Knowles R.E., Nelson J.W., Kohler G.O. 1968a. Xanthophyll and carotene loss during pilot and industrial scale alfalfa processing. *Journal of Agriculture and Food Chemistry* 16:84–87.

- Livingston A.L., Smith D., Carnahan H.L., Knowles R.E., Nelson J.W., Kohler G.O. 1968b. Variation in the xanthophyll and carotene content of lucerne, clovers and grasses. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 19:632–636.
- Lotthammer K.H., Ahlswede L., Meyer H. 1976. Untersuchungen über eine spezifische Vitamin A-unabhängige Wirkung des/3-Carotins auf die Fertilität des Rindes. 2. Mitt.: Weitere klinische Befunde und Besamungsergebnisse. *Dtsch. Tierärztl. Wochenschr.* 83:353.
- Lovisot P. 1977. *Bioquímica Estructural*. Editorial Omega. Barcelona, España.
- McCulloch J.S., Ratcliffe B., Mandir N., Carr K.E, Goodlad R.A. 1998. Dietary fibre and intestinal microflora: Effects on intestinal morphometry and crypt branching. *Gut* 42:799–806.
- Mares-Perlman J., Millen A.E., Ficek T., Hankinson S.E. 2002. The body of evidence to support a protective role for lutein and zeaxanthin in delaying chronic disease. Overview. *Journal of Nutrition* 132:518S-524S.
- Martínez-Peña M., Cortés-Cuevas A., Ávila-González E. 2004. Evaluación de tres niveles de pigmento de flor de cempasúchil (*Tagetes erecta*) sobre la pigmentación de la piel en pollos de engorda. *Técnica Pecuaria México* 42:105-111.
- Mason V.C., Kessank P., Ononwu J.C., Narang M.P. 1981. Factors influencing faecal nitrogen excretion in sheep. 2. Carbohydrate fermentation in the caecum and large intestine. *Zeitschrift für Tierphysiologie Tierernährung und Futtermittelkunde* 45:174–184.
- Masoro E.J. 1968. *Physiological Chemistry of Lipids in Mammals*. Editorial W. B. Saunders. Filadelfia.
- Meléndez-Martínez A.J., Vicario M.I., Heredia J.F. 2004. Importancia nutricional de los pigmentos carotenoides. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición* 54(2): 149-154.
- Michal J.J., Heirman L.R., Wong T.S., Chew B.P. 1994. Modulatory effects of dietary β -carotene on blood and mammary function in periparturient dairy cows. *Journal of Dairy Science* 77:1408–1421.
- Miki W., Yamaguchi K., Konosu S., Watanabe T. 1984. Metabolism of dietary carotenoids in eggs of red sea bream. *Comparative Biochemistry and Physiology* 77B:665–668.
- Miller R.K. 2002. Factors affecting the quality of raw meat. En: *Meat Processing. Improving Quality*. J. Kerry y D. Ledward (compiladores). Wood Head Publishing. Cambridge, Inglaterra.
- Molldrem K.L., Li J., Simon P.W., Tanumihardjo S.A. 2004. Lutein and β -carotene from lutein-containing yellow carrots are bioavailable in humans. *American Journal of Clinical Nutrition* 80:131-136.

- Mora O., Romano J.L., González E., Ruiz F.J., Shimada A., 1999. *In vitro* and *in situ* disappearance of betacarotene and lutein from lucerne (*Medicago sativa*) hay in bovine and caprine ruminal fluids. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 79:273–276.
- Mora O., Romano J.L., González E., Ruiz F.J., Shimada A. 2000. Low cleavage activity of 15,15'-dioxygenase to convert β -carotene to retinal in cattle compared with goats, is associated with the yellow pigmentation of adipose tissue. *International Journal of Veterinary Nutritional Research* 70:199-205.
- Mora O., Shimada A. 2001. Causas del color amarillo de la grasa de canales de bovinos finalizados en pastoreo. *Veterinaria México* 32:63–71.
- Morgan J.H.L., Everitt G.C. 1968. Beef production from Jersey steers grazed in three environments. *Proceedings of the New Zealand Society of Animal Production* 28: 158-176.
- Moon F.E. 1939. The carotene content of some grass and clover species, with a note on Importancia nutricional de los pigmentos carotenoides. pasture weeds. *Empire Journal of Experimental Agriculture* 7:235-243.
- Murray R., Mayes D., Granner D., Rodwell V.1986. *Bioquímica de Harper*. Editorial El Manual Moderno. México D.F.
- Navarrete-Bolaños J.L., Rangel-Cruz C.L., Jiménez-Islas H., Botello-Alvarez E., Rico-Martínez R. 2005. Pre-treatment effects on the extraction efficiency of xanthophylls from marigold flower (*Tagetes erecta*) using hexane. *Food Research International* 38:159-165.
- Niizu P.Y., Rodríguez-Amaya D.B. 2005. New data on the carotenoid composition of raw salad vegetables. *Journal of Food Composition and Analysis* 18:739–749.
- Nishino H., Tokuda H., Satomi Y., Masuda M., Bu P., Onozuka M., Yamaguchi S., Okuda Y., Takayasu J., Tsuruta J., Okuda M., Ichiishi E., Murakoshi M., Kato T., Misawa N., Narisawa T., Takasuka N., Yano M. 1999. Cancer prevention by carotenoids. *Pure and Applied Chemistry* 71:2273-2278.
- Nozière P., Graulet B., Lucas A., Martin B., Grolier P., Doreau M. 2006. Carotenoids for ruminants: From forages to dairy products. *Animal Feed Science and Technology* 131:418-450.
- Nyachoti C.M., Omogbenigun F.O., Rademacher M., Blank G. 2006. Performance responses and indicators of gastrointestinal health in early-weaned pigs fed low-protein amino acid-supplemented diets. *Journal of Animal Science* 84:125–134.
- Nys Y., 2000. Dietary carotenoids and egg yolk coloration—a review. *Archiv für Geflügelkunde* 64:45–54.

- Oldham E.R., Eberhart R.J., Muller L.D. 1991. Effects of supplemental Vitamin A or beta-carotene during the dry period and early lactation on udder health. *Journal of Dairy Science* 74:3775–3781.
- Olmedilla B.A., Granado F.L., Blanco N.I. 2001. Carotenoides y salud humana. Editorial Fundacion Española de la Nutrición. Madrid, España.
- Olson J.A. 1989. Biological actions of carotenoids. *Journal of Nutrition* 19:94-95.
- Olson J.A. 1994. Absorption, transport, and metabolism of carotenoids in humans. *Pure and Applied Chemistry* 66:1011-1016.
- Olson J.A., Hayaishi O. 1965. The enzymatic cleavage of beta-carotene into vitamin A by soluble enzymes of rat liver and intestine. *Proceedings of the National Academy of Science* 54:1364-1370.
- Omenn G.S., Goodman G.E., Thornquist M.D. 1996. Effects of a combination of beta carotene and vitamin A on lung cancer and cardiovascular disease. *New England Journal of Medicine* 334:1150-1155.
- Ong A.S.H., Tee E.S. 1992. Natural sources of carotenoids from plants and oils. *Methods in Enzymology Part A* 213:142-167.
- Ovalle F. 1989. Importancia de los Lípidos en la Medicina Contemporánea. Síntesis y Metabolismo del Colesterol y los Triglicéridos. Editorial Panamericana. Bogotá, Colombia.
- Paik J.W., Kim C.S., Cho K.S., Chai J.K., Kim C.K., Choi S.H. 2004. Inhibition of cyclosporin A-induced gingival overgrowth by azithromycin through phagocytosis: an *in vivo* and *in vitro* study. *Journal of Periodontology* 75:380–387.
- Paredes-López O, Guzmán-Maldonado S.H., Reyes-Moreno C., Ordorica-Falomir C., Delgado-Vargas F. 1999. Alimentos Nutraceuticos: Realidad y Ficción. *Revista de la Universidad Autónoma de Sinaloa* 6:20-34.
- Parker R.S. 1996. Absorption, metabolism, and transport of carotenoids. *FASEB Journal* 10:542-551.
- Parker R.S. 1997. Bioavailability of carotenoids. *European Journal of Clinical Nutrition* 51:S86-S90.
- Pecker I., Gabbay R., Cunningham F.X., Hirschberg J. 1996. Cloning and characterization of the cDNA for lycopene beta-cyclase from tomato reveals decrease in its expression during fruit ripening. *Plant Molecular Biology* 30:807-819.
- Pirich Ch., Mullner M., Sinzinger H. 2000. Prevalence and relevance of thyroid dysfunction in 1922 cholesterol screening participants. *Journal of Clinical Epidemiology* 53: 623-629.
- Pfander H, Liaenen-Jensen S., Britton G. 1996. Synthesis in perspective. En: *Carotenoids Vol. 2: Synthesis*. G. Britton, S. Liaenen-Jensen y H. Pfander (compiladores). Birkhauser Verlag. Basilea, Suiza.

- Pogson B., McDonald K.A., Truong M., Britton G., DellaPenna D. 1996. *Arabidopsis* carotenoid mutants demonstrate that lutein is not essential for photosynthesis in higher plants. *Plant Cell* 8:1627-1639.
- Pollack J., Campbell J., Potter S., Erdman J. 1994. Mongolian gerbils (*Meriones unguiculatus*) absorb β -carotene intact from a test meal. *Journal of Nutrition* 124:869-873.
- Potkanski A.A., Tucker R.E., Mitchell G.E. 1974. Pre-intestinal carotene losses in sheep fed alfalfa or isolated carotene beadlets. *International Journal for Vitamin and Nutrition Research* 44:3-7.
- Prache S., Priolo A., Jailler R., Dubroeuq H., Micol D., Martin B., 2002. Traceability of grass-feeding by quantifying the signature of carotenoid pigments in herbivore meat, milk and cheese. Proceedings of the 19th General Meeting of the European Grassland Federation on Multi-Function Grasslands: Quality Forages, Animal Products and Landscapes. Association Francaise pour la Production Fourragère. Versailles, Francia.
- Price M.A. 1995. Development of carcass grading and classification systems. En: Quality and grading of carcasses of meat animals. S.D. Morgan-Jones (compilador). CRC Press. Boca Raton, Florida.
- Rodriguez-Amaya D.B. 1996. Assessment of the provitamin A contents of foods—the Brazilian experience. *Journal of Food Composition and Analysis* 9:196-230.
- Rodriguez-Amaya D.B. 1999. Carotenoides y preparación de alimentos. Universidad Estadual de Campinas. Campinas, Sao Paulo, Brasil.
- Rodriguez-Amaya D.B. 1997. Carotenoides y preparación de alimentos: la retención de los carotenoides provitamina A en alimentos preparados, procesados y almacenados. Proyecto John Snow Inc./OMNI. Brasil.
- Ramos D.J.I., Gutiérrez de la Roche H. 1972. Vitamina A, caroteno y proteína en sangre de ganado lechero. *Revista ICA (Colombia)* 7(4):455-464.
- Ribaya M.J., Holmgren S.C., Fox J.G., Russell R.M. 1989. Dietary β -carotene absorption and metabolism in ferrets and rats. *Journal of Nutrition* 119:665-668.
- Ribaya-Mercado J.D., Blumberg J.B. 2004. Lutein and zeaxanthin and their potential roles in disease prevention. *Journal of the American College of Nutrition* 23:567S-587S.
- Rock C.L., Swendseid M.E. 1992. Plasma β -carotene response in humans after meals supplemented with dietary pectin. *American Journal of Clinical Nutrition* 55:96-99.
- Rode L.M., McAllister T.A., Cheng K.J. 1990. Microbial degradation of vitamin A in rumen fluid of steers fed concentrate, hay or straw diets. *Canadian Journal of Animal Science* 70:227-233.
- Rodermel S. 2001. Pathways of plastid-to-nucleus signaling. *Trends in Plant Science* 6(10):470-478

- Roe R.M., Burton J.D., Kuhr R.J. 1997. *Herbicide activity: toxicology, biochemistry and molecular biology*. IOS Press. Lansdale, Pensilvania.
- Ronen G., Carmel-Goren L., Zamir D., Hirschberg J. 2000. An alternative pathway to β -carotene formation in plant chromoplasts discovered by map-based cloning of Beta and old-gold color mutations in tomato. *Proceedings of the National Academy of Science* 97:11102-11107.
- Saari J.C., Bunt A.H, Futterman S., Berman E.R. 1997. Localization of cellular retinol binding protein in bovine retine and retinal pigment epithelium. *Investigative Ophtalmology and Visual Science* 16:797-806.
- Saguy I., Goldman M., Karel M. 1985. Prediction of betacarotene decolorization in model system under static and dynamic conditions of reduced oxygen environment. *Journal of Food Science* 50:526-530.
- Sánchez A., Flores-Cotera L., Langley E., Martín R., Maldonado G., Sánchez S. 1999. Carotenoides: estructuras, función, biosíntesis, regulación y aplicaciones. *Revista Latinoamericana de Microbiología* 41:175-191.
- Sandmann, G. 1994. Carotenoid biosynthesis in microorganisms and plants. *European Journal of Biochemistry* 223:7-24.
- Santamaría J. 2003. El β -caroteno en la reproducción del ganado vacuno. *Alimentación Animal. Product Manager Rumiantes*. Roche Vitaminas.
- SAS Institute. 2000. *SAS/STAT Guide for personal computers*. Version 8. SAS Institute. Cary, North Carolina.
- Schmitz H.H., Poor C.L., Wellman R.B., Erdman J.W. 1991. Concentrations of selected carotenoids and vitamin A in human liver, kidney and lung tissue. *Journal of Nutrition* 121:1613-21.
- Shorland F.B., Weenink R.O., Jhons A.T., McDonald I.R. 1957. The effect of sheep-rumen contents on unsaturated fatty acids. *Biochemistry Journal* 67:328-333.
- Seal C.J., Parker D.S. 1996. The effect of intraruminal propionic-acid infusion on metabolism of mesenteric-drained and portal-drained viscera in growing steers fed a forage diet. 2. Ammonia, urea, aminoacids and peptides. *Journal of Animal Science* 74:245-256.
- Seshan P.A., Sen K .C.1942. Studies on carotene in relation to animal nutrition. 2. The development and distribution of carotene in the plant and the carotene content of some common feeding stuff. *Journal of Agricultural Science* 32:201-216.
- Scheer H.1991. *Chlophylls*. CRC Press. Boca Raton, Florida.
- Slattery M., Benson J., Curtin K., Ma K.N., Schaeffer D., Potter J.D. 2000. Carotenoids and colon cancer. *American Journal of Clinical Nutrition* 71:575-582.

- Stadtman E.R. 1992. Protein oxidation and aging. *Science* 257:1220-1224.
- Stahl W., Sies H. 1992. Uptake of lycopene and its geometrical isomers is greater from heat processed than from unprocessed tomato juice in humans. *Journal of Nutrition* 122:2161–2166.
- Stark A., Madar Z. 1994. Dietary fiber. En: *Functional Foods: Designer Foods, Pharmafoods, Nutraceuticals*. I. Goldberg (compilador). Chapman and Hall. Nueva York.
- Stark A., Nyska A., Madar Z. 1996. Metabolic and morphometric changes in small and large intestine in rats fed high-fiber diets. *Toxicologic Pathology* 24:166–171.
- Strachan D., Yang A., Dillon R. 1993. Effect of grain feeding on fat colour and other carcass characteristics in previously grass-fed *Bos indicus* steers. *Australian Journal of Experimental Agriculture* 33:269-273.
- Swatland H.J. 1988. Interference colors of beef fasciculi in circularly polarized light. *Journal of Animal Science* 66(2):379–384.
- Tang G., Wang X.D., Russell R.M. 1991. Characterization of β -apo-13-carotenone and β -apo-14'-carotenal as enzymatic products of the excentric cleavage of β -carotene. *Biochemistry* 30:9829-9834.
- Taylor M.A., Ramsay G. 2005. Carotenoid biosynthesis in plant storage organs: recent advances and prospects for improving plant food quality. *Physiologia Plantarum* 124:143-151.
- Tilley J.M., Terry R.A. 1963. A two-stage technique for the in vitro digestion of forage crops. *Journal of the British Grasslands Society* 18:104-111.
- Topping D.L. 1991. Soluble fiber polysaccharides: Effects on plasma cholesterol and colonic fermentation. *Nutrition Review* 49:195-203.
- Torrissen O.J., Christiansen, R. 1995. Requirements for carotenoids in fish diets. *Journal of Applied Ichthyology* 11:225-230.
- Tsai A.C., Elias J., Kelley J.J., Lin R.S.C., Robson J.R.K. 1976. Influence of certain dietary fibers on serum and tissue cholesterol levels in rats. *Journal of Nutrition* 106:118-125.
- Valdés Martínez S.E. 2006. Hidratos de carbono. En: *Química de Alimentos*. S. Badui (compilador). Pearson Addison-Wesley. México D.F.
- Valenzuela B.A., Morgado T.N. 2006. Breve historia de la relación entre el colesterol y las enfermedades cardiovasculares. *Revista Chilena de Nutrición* 33:130-134.
- Van Soest P.J. 1963. Use of detergents in the analysis of fibrous feeds. I. preparation of fiber residues of low nitrogen content. *Association of Official Analytical Chemists Journal* 43:829-835.
- Van Soest P.J. 1994. *Nutritional Ecology of the Ruminant*. Comstock Publishing, Cornell University Press. Nueva York.

- VanVliet, 1996. Absorption of β -carotene and other carotenoids in humans and animal models. *European Journal of Clinical Nutrition* 50(suppl 3):S32-S37.
- Vassallo-Agius R., Imaizumi H., Watanabe T., Yamazaki T., Satoh S., Kiron V., 2001. The influence of astaxanthin supplemented dry pellets on spawning of striped jack. *Fisheries Science* 67:260– 270.
- Vishnevetsky M., Ovadis M., Zuker A., Vainstein A. 1999. Molecular mechanism underlying carotenogenesis in the chromoplast multilevel regulation of carotenoid-associated-genes. *The Plant Journal* 20:423-431.
- Von Linting J., Welsch R., Bonk M., Giuliano G., Batschauer A., Kleinig H. 1997. Light-dependent regulation of carotenoid biosynthesis occurs at the level of phytoene synthase expression and is mediated by phytochrome in *Sinapis alba* and *Arabidopsis thaliana* seedlings. *Plant Journal* 12(3):625-634.
- Walker P.J., Warner R.D., Winfield C.G. 1990. Sources of variation in subcutaneous fat colour of beef carcasses. *Proceedings of the Australian Society of Animal Production*. Werribee, Victoria, Australia.
- Wang X.D., Tang G.W., Fox J.G., Krinsky N.I., Russell R.M. 1991. Enzymatic conversion of β -carotene into β -apo-carotenals and retinoids by human, monkey, ferret and rat tissues. *Archives of Biochemistry and Biophysics* 285:8-16.
- Weber U., Goerz G. 1986. Carotinoid-Retinopathie. III. Reversibilität. *Klinische Monatsblätter für Augenheilkunde* 188(1):20-2.
- Weiss W. P., Smith K.L., Hogan J.S., Steiner T.E. 1995. Effect of forage to concentrate ratio on disappearance of vitamins A and E during *in vitro* ruminal fermentation. *Journal of Dairy Science* 78:1837–1842.
- Welsch R., Beyer P., Huguency P., Kleinning H., Von Linting J. 2001. Regulation and activation of phytoene synthase, a key enzyme in carotenoid biosynthesis during morphogenesis, *Planta* 211:846-854.
- Willats G.T., Knox J.P., Dalgaard M.J. 2006. Pectin: new insights into an old polymer are starting to gel. *Trends in Food Science and Technology* 17:97-104.
- Williams C.H., David D.J., Lisma O. 1962. The determination of chromic oxide in faeces samples by atomic spectrophotometry. *Journal of Agricultural Science* 59:381- 382.
- Wing J.M. 1982. *Citrus Feedstuffs for Dairy Cattle*. Florida Agriculture Experimental Station Bulletin 829. Gainesville, Florida.
- Woodward B. 1994. Dietary vitamin requirements of cultured young fish, with emphasis on quantitative estimates for salmonids. *Aquaculture* 124 (1-4):133-168.
- Wrolstand R.E. 2000. Colorants. En: *Food Chemistry. Principles and Application*. G.L. Christen y J. Scott Smith (compiladores). Science Technology System, West Sacramento, California.

- Wyss A., Wirtz G., Woggon W.D., Brugger R., Wyss M., Friedlin A., Bachman H., Hunziker W. 2000. Cloning and expression of β - β -carotene-15-15'-dioxygenase. *Biochemical and Biophysical Research Communication* 271:334-336.
- Yang A., Larsen T.W., Tume R.K., 1992. Carotenoid and retinol concentrations in serum, adipose-tissue and liver and carotenoid transport in sheep, goats and cattle. *Australian Journal of Agricultural Research* 43:1809–1817.
- Yang A., Tume R.K., 1993. A comparison of beta-carotene-splitting activity isolated from intestinal mucosa of pasture-grazed sheep, goats and cattle. *Biochemistry and Molecular Biology International* 30:209–217.
- Yeum, K.-J., Russell, R.M. 2002. Carotenoid bioavailability and bioconversion. *Annual Review of Nutrition* 22:483-504.
- Young A.J., Lowe G.M. 2001. Antioxidant and prooxidant properties of carotenoids. *Archives of Biochemistry and Biophysics* 385:20-27.
- Zanutto, M.E., Jordão Jr., A.A., Meirelles, M.S.S., Fávoro, R.M.D., Vannucchi, H. 2002. Effect of citric pectin on β -carotene bioavailability in rats. *Int. J. Vit. Nutr. Res.* 72: 199-203.
- Zamora, R., Hidalgo, F.J., Tappel, A.L. 1991. Comparative antioxidant effectiveness of dietary beta-carotene, vitamin E, selenium and coenzyme Q10 in rat erythrocytes and plasma. *Journal of Nutrition* 121: 50-56
- Zhu C.L. 2003. Effects of graded levels of dietary pectin on amino acid utilization for body protein deposition in growing pigs. M.Sc. Thesis. University of Guelph. Guelph, Ontario, Canada.
- Zhu C.L., Rademacher M., de Lange C.F.M. 2005. Increasing dietary pectin level reduces utilization of digestible threonine intake, but not lysine intake, for body protein deposition in growing pigs. *Journal of Animal Science* 83:044-1053.

ANEXOS

ANEXO 1

Simulación de la digestión abomasal

Solución: 1g pepsina/L, HCL 0.1 N; 62.5 mL/bolsa

Condiciones: 39°C por 2 h

ANEXO 2

Saliva MacDougall

Reactivo	g
NaHCO ₃	9.80
Na ₂ HPO ₄ · 7H ₂ O	7.00 (3.71 - dibásico o anhidro)
KCL	0.57
NaCL	0.47
Mg SO ₄ · 7H ₂ O	0.12
CaCL ₂	0.04

Disolver los primeros 5 reactivos en agua destilada y aforar a 1 L, posteriormente añadir CaCL₂ y burbujear CO₂ a la solución hasta pH 6.8-7.0

ANEXO 3

Distribución de los tratamientos en cuatro periodos para el estudio el efecto de β -caroteno en interacción con pectina

	Tratamientos			
	1	2	3	4
Periodo uno	1	2	3	4
Periodo dos	4	1	2	3
Periodo tres	3	4	1	2
Periodo cuatro	2	3	4	1

ANEXO 4

Determinación de fibra detergente neutra (FDN)

Reactivos:

1) solución detergente neutra por L de agua destilada (g)

a. lauril sulfato de sodio	30
b. EDTA	18.61
c. fosfato ácido disódico anhídrido	4.56
d. tetraborato de sodio deshidratado	6.81
e. éter de etilen glicol monoetilo	10 mL

2) decahidronaftaleno

3) acetona, libre de coloraciones y que no deje residuos después de su evaporación

4) sulfito de sodio anhidro (solo con muestras que tengan coloración, como las excretas)

Preparación de las muestras: A 1 g de muestra seca (55°C, tiempo), molidas y cribadas (cedazo de 1 mm) se le añadieron 100 mL de la solución detergente neutra y 2 µL de decahidronaftaleno; en el caso de muestras que presentaban coloración, como las heces, se adicionó 0.5 g de sulfito de sodio. La mezcla se calentó a 90°C en un digestor, manteniendo la ebullición durante 60 min. En este momento se disminuyó la temperatura para evitar la formación de espuma.

Filtrado: Las muestras se filtraron al vacío través del papel filtro preparado 24 h antes (el papel Whatman 541 se llevó a peso constante a 110°C por 24 h) en un embudo Buchner. Una vez finalizado el filtrado, el papel filtro más la muestra se lavó 6 a 7 veces con agua destilada caliente (90 a 100°C); se realizó un lavado final con acetona.

Secado de la muestra: Finalmente, y una vez concluido el lavado de las muestras, el papel filtro con la muestra se secó por succión de vacío, y en estufa a 100°C por 12 h. Se enfrió y pesó. El blanco consistió en papel filtro sin muestra. La FDN se expresó como porcentaje de constituyentes de la pared celular (CPC) empleando la siguiente ecuación:

$$\text{CPC} = \frac{(\text{peso papel+muestra})-(\text{peso papel})}{\text{peso de la muestra}} \times 100$$

ANEXO 5

Determinación de fibra detergente ácida (FDA)

Reactivos:

1) solución detergente ácida por L de agua destilada (g)

a. H₂SO₄ 1N

b. Bromuro de centiltrimetil amonio (CTAB) 20 g

1) decahidronaftaleno

2) acetona, libre de coloraciones y que no deje residuos después de su evaporación

3) sulfito de sodio anhidro (solo con muestras que tengan coloración, como las excretas)

Se llevó de la misma forma que determinación de la fibra detergente neutra, pero empleando solución detergente ácida en lugar de la solución detergente neutra. El blanco consistió en papel filtro sin muestra. La FDA se calculó de la ecuación siguiente:

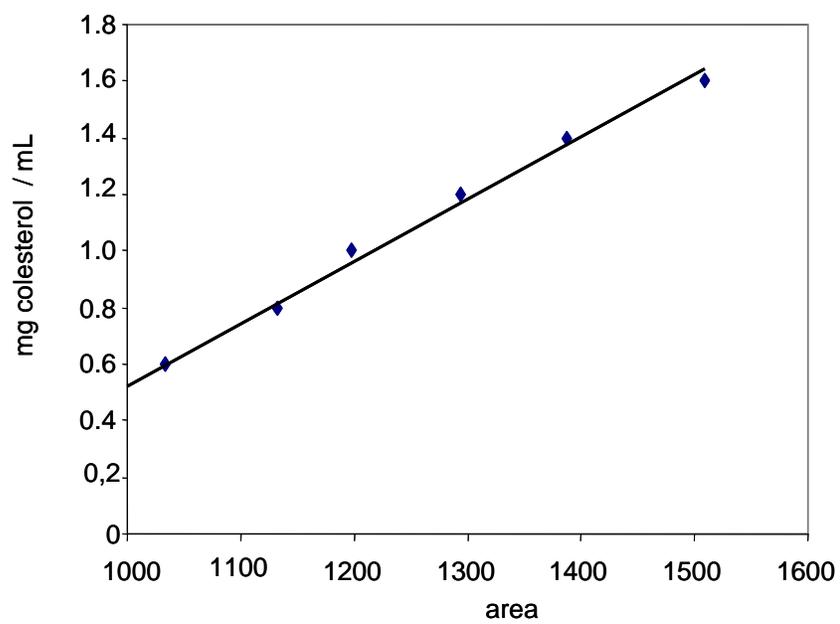
$$\text{FDA} = \frac{(\text{peso papel+muestra})-(\text{peso papel})}{\text{peso de la muestra}} \times 100$$

ANEXO 6

Curva estándar de colesterol

$$y = 0,00221x - 1,68295$$

$$R^2 = 0,99463$$

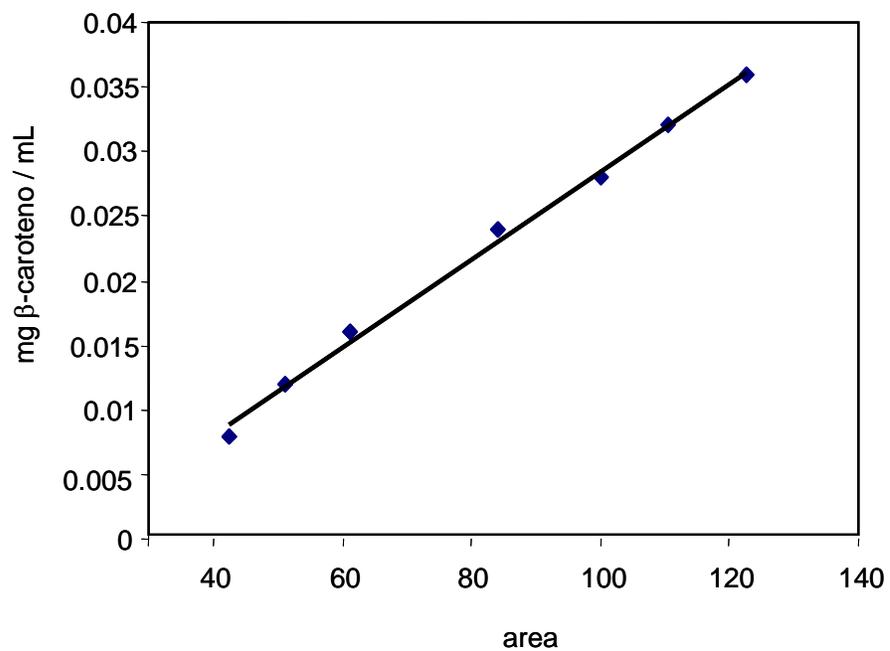


ANEXO 7

Curva estándar de β -caroteno

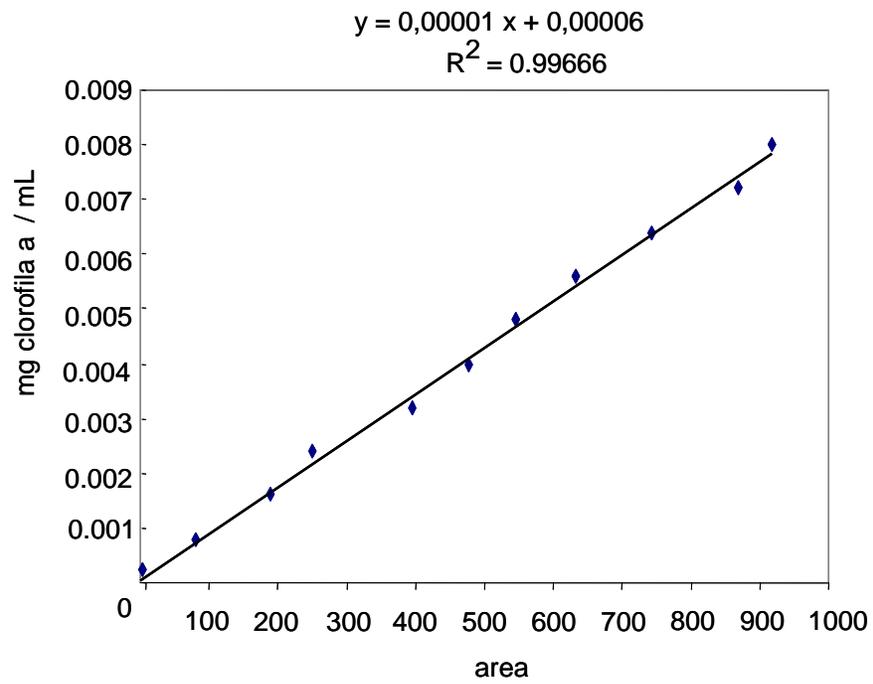
$$y = 0,0003x - 0,0055$$

$$R^2 = 0,9963$$



ANEXO 8

Curva estándar de clorofila a

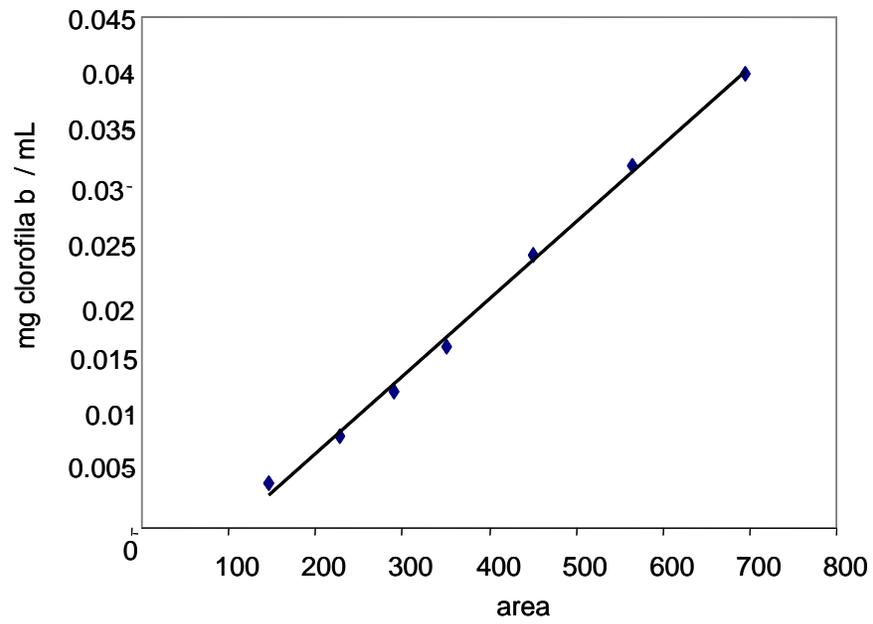


ANEXO 9

Curva estándar de clorofila b

$$y = 0,00007x - 0,00702$$

$$R^2 = 0.99677$$



ANEXO 10

Análisis de varianza: variables bromatológicas de los pastos estudiados

Variable	Error		CV	Media	R ²	P >
	GL	CM				
Materia seca	10	1.531	0.022	91.88	0.751	0.005
Proteína cruda	10	0.473	0.120	11.817	0.833	0.001
Fibra Detergente Neutra	10	0.940	0.049	65.581	0.937	0.0001
Fibra Detergente Ácida	10	0.861	0.148	38.69	0.981	0.0001
Extracto Etéreo	10	0.247	0.172	3.17	0.413	0.214
Cenizas	10	0.188	0.35	0.6875	0.834	0.0001
β-caroteno	10	0.904	0.042	54.12	0.878	0.0001

* MS: Materia seca; PC: Proteína cruda; FDN: Fibra detergente neutra; FDA: Fibra detergente ácida; EE: Extracto Etéreo

ANEXO 11

**Análisis de varianza: degradabilidad de MS y carotenoides
totales en el rumen, duodeno y tracto total**

Variable	Error		CV	Media	R ²	P >
	GL	CM				
Degradabilidad materia seca en rumen	12	1.841	0.181	58.93	0.987	0.0001
Degradabilidad materia seca en duodeno	15	1.058	0.447	28.64	0.995	0.0001
Degradabilidad materia seca total	15	1.931	0.186	14.10	0.992	0.0001
Degradabilidad carotenoides en rumen	12	0.006	0.372	0.367	0.740	0.001
Degradabilidad carotenoides en duodeno	15	0.007	0.71	0.3938	0.933	0.0001
Degradabilidad carotenoides total	15	0.188	0.35	0.6875	0.834	0.0001

ANEXO 12

Comparación múltiple de medias de Tukey: degradabilidad de MS y carotenoides totales en el rumen

(I) Hora	(J) Hora	Carotenoides						Materia Seca					
		Rumen		Duodeno		Total		Rumen		Duodeno		Total	
		Diferencia en medias (I-J)	Sig.	Diferencia en medias (I-J)	Sig.	Diferencia en medias (I-J)	Sig.	Diferencia en medias (I-J)	Sig.	Diferencia en medias (I-J)	Sig.	Diferencia en medias (I-J)	Sig.
00.00	12.00			.4606 [*]	.000	-.1023	.700			25.5950 [*]	.000	-18.0675 [*]	.000
	24.00			.5199 [*]	.000	.1988	.141			33.5825 [*]	.000	-22.0150 [*]	.000
	48.00			.5837 [*]	.000	.2836 [*]	.020			31.5425 [*]	.000	-32.1900 [*]	.000
12.00	24.00	.2418 [*]	.004	.8021 [*]	.000	.5173 [*]	.000	-14.08 [*]	.000	31.0075 [*]	.000	-40.3150 [*]	.000
	48.00	.2628 [*]	.002	-.4606 [*]	.000	.1023	.700	-20.23 [*]	.000	-25.5950 [*]	.000	18.0675 [*]	.000
	72.00	.2781 [*]	.001	.0594	.838	.3012 [*]	.013	-28.01 [*]	.000	7.9875 [*]	.000	-3.9475 [*]	.008
24.00	12.00	-.2418 [*]	.004	.1231	.256	.3859 [*]	.002	14.08 [*]	.000	5.9475 [*]	.000	-14.1225 [*]	.000
	48.00	.0210	.980	.3415 [*]	.000	.6196 [*]	.000	-6.15 [*]	.000	5.4125 [*]	.000	-22.2475 [*]	.000
	72.00	.0363	.910	-.5199 [*]	.000	-.1988	.141	-13.93 [*]	.000	-33.5825 [*]	.000	22.0150 [*]	.000
48.00	12.00	-.2628 [*]	.002	-.0594	.838	-.3012 [*]	.013	20.23 [*]	.000	-7.9875 [*]	.000	3.9475 [*]	.008
	24.00	-.0210	.980	.0638	.801	.0848	.819	6.15 [*]	.000	-2.0400	.084	-10.1750 [*]	.000
	72.00	.0153	.992	.2821 [*]	.002	.3184 [*]	.008	-7.78 [*]	.000	-2.5750 [*]	.021	-18.3000 [*]	.000
72.00	12.00	-.2781 [*]	.001	-.5837 [*]	.000	-.2836 [*]	.020	28.01 [*]	.000	-31.5425 [*]	.000	32.1900 [*]	.000
	24.00	-.0363	.910	-.1231	.256	-.3859 [*]	.002	13.93 [*]	.000	-5.9475 [*]	.000	14.1225 [*]	.000
	48.00	-.0153	.992	-.0638	.801	-.0848	.819	7.78 [*]	.000	2.0400	.084	10.1750 [*]	.000

ANEXO 13

Análisis de Varianza: degradabilidad de MS y carotenoides de alfalfa *in vitro*

Variable	Error		CV	Media	R ²	P >
	GL	CM				
Degradabilidad materia seca	12	0.262	0.038	242.91	0.740	0.001
Degradabilidad carotenoides	12	18.728	0.018	45.73	0.807	0.0001

ANEXO 14

Análisis de varianza entre tratamientos (concentración de pectina): Flujo de nutrientes y pigmentos de duodeno a heces (postruminal)

Variable		Error		CV	Media	R ²	P>
		GL	CM				
Materia seca	g	6	166014.5	14.5	2800.4	0.780	0.153
	%	6	21.6	14.6	37.7	0.798	0.124
Materia orgánica	g	6	60438.9	14.0	1755.3	0.789	0.138
	%	6	26.7	14.5	35.5	0.828	0.083
Proteína	g	6	154.4	13.6	91.3	0.815	0.100
	%	6	6.8	13.4	19.4	0.834	0.077
FDN	g	6	35033.3	16.3	1145.3	0.751	0.202
	%	6	61.2	17.0	45.9	0.833	0.077
β- caroteno	mg	6	1x10 ⁻⁶	16.7	0.261	0.980	0.0002
	%	6	13.0	18.8	19.1	0.925	0.008
Clorofila a	mg	6	1x10 ⁻⁹	23.6	0.0044	0.321	0.940
	%	6	45.0	30.7	21.8	0.303	0.952
Clorofila b	mg	6	9x10 ⁻⁹	18.9	0.016	0.965	0.001
	%	6	8.4	10.8	26.7	0.980	0.0002

ANEXO 15

Análisis de varianza entre tratamientos (concentración de pectina): Flujo de nutrientes y pigmentos del alimento consumido a heces (digestibilidad total)

Variable		Error		CV	Media	R ²	P>
		GL	CM				
Materia seca	g	6	171396.1	18.4	2240.3	0.650	0.410
	%	6	22.0	18.6	25.1	0.642	0.428
Materia orgánica	g	6	279685.3	16.6	1298.3	0.717	0.268
	%	6	16.8	17.6	23.2	0.671	0.364
Proteína	g	6	97.2	19.9	49.4	0.638	0.437
	%	6	10.5	19.0	17.0	0.633	0.446
FDN	g	6	20079.6	19.4	727.1	0.674	0.359
	%	6	13.8	18.6	19.9	0.655	0.399
Grasa total	g	6	0.095	22.9	1.3	0.919	0.011
	%	6	9.0	15.2	19.6	0.919	0.011
β- caroteno	mg	6	5x10 ⁻⁶	34.1	0.22	0.970	0.0007
	%	6	14.5	18.8	20.2	0.967	0.0008
Clorofila a	mg	6	3x10 ⁻¹¹	41.5	0.0004	0.424	0.229
	%	6	0.672	28.2	2.9	0.412	0.852
Clorofila b	mg	6	2x10 ⁻⁹	3.8	0.041	0.998	0.0001
	%	6	1.4	2.0	1.1	0.999	0.0001

ANEXO 16

Análisis de varianza entre tratamientos (concentración de pectina): Digestión de nutrientes y absorción de pigmentos de duodeno a heces (digestión postruminal)

Variable		Error		CV	Media	R ²	P>
		GL	CM				
Materia seca	g	6	167572.6	6.7	6042.7	0.846	0.064
	%	6	21.6	6.8	68.2	0.798	0.124
Materia orgánica	g	6	293846.8	6.6	3349.9	0.826	0.087
	%	6	26.7	8.0	64.4	0.828	0.083
Proteína	g	6	346.0	4.9	377.0	0.849	0.060
	%	6	6.8	3.2	80.5	0.834	0.077
FDN	g	6	51567.1	16.0	1413.3	0.828	0.083
	%	6	61.2	14.4	54.0	0.833	0.077
β- caroteno	mg	6	3x10 ⁻⁵	18.1	0.978	0.853	0.05
	%	6	13.0	4.4	80.8	0.925	0.008
Clorofila a	mg	6	1x10 ⁻⁸	26.0	0.016	0.464	0.778
	%	6	45.0	8.5	78.1	0.303	0.952
Clorofila b	mg	6	1x10 ⁻⁷	13.8	0.077	0.733	0.236
	%	6	66.6	9.8	82.6	0.719	0.263

ANEXO 17

Análisis de varianza entre tratamientos (concentración de pectina): Digestión de nutrientes y absorción de pigmentos de la ingesta del alimento a heces (digestibilidad total)

Variable		Error		CV	Media	R ²	P>
		GL	CM				
Materia seca	g	6	193555.3	6.6	6663.0	0.627	0.460
	%	6	22.0	6.2	74.8	0.642	0.428
Materia Orgánica	g	6	74359.7	6.3	4286.8	0.629	0.455
	%	6	16.8	5.3	76.7	0.671	0.364
Proteína	g	6	198.8	5.8	240.7	0.611	0.496
	%	6	10.5	3.9	82.9	0.633	0.446
FDN	g	6	28973.5	5.8	2909.8	0.615	0.486
	%	6	13.8	4.6	80.0	0.655	0.399
Grasa total	g	6	0.500	14.2	4.9	0.898	0.021
	%	6	9.02	3.7	80.3	0.919	0.011
β- caroteno	mg	6	1x10 ⁻⁵	17.5	0.575	0.941	0.004
	%	6	14.5	4.7	79.7	0.967	0.0008
Clorofila a	mg	6	4x10 ⁻⁹	15.4	0.014	0.637	0.438
	%	6	0.672	0.844	97.0	0.412	0.852
Clorofila b	mg	6	3x10 ⁻⁸	24.4	0.025	0.942	0.004
	%	6	5.54	4.0	57.65	0.992	0.0001

ANEXO 18

Análisis de varianza entre tratamientos (concentración de pectina): colesterol total en sangre

Variable	Error		CV	Media	R ²	P>
	GL	CM				
Colesterol total (mg/mL)	6	7x10 ⁻⁴	1.9	1.4	0.989	0.0001

PRODUCTIVIDAD

PRODUCTIVIDAD

- Participación en el curso Producción animal en Madrid España, con una beca de Agencia Internacional de Cooperación Española, Noviembre 2009.
- Capítulo “Post mortem handling” del libro Handbook of Meat Science and Technology, Taylor and Francis.
- Impartición de dos temas en el curso sobre “Nutrición de ganado de doble propósito” y “Características de la canal Bovina alimentados con forrajes” en el municipio de Tejupilco, Estado de México. Patrocinado por la Federación de Médicos Veterinarios Zootecnistas.
- Romero-Pérez, A., García-García, E., Zavaleta-Mancera, A., Ramírez-Bribiesca, J.E., Revilla-Vázquez, A., Hernández-Calva, L.M., López-Arellano, R. Cruz-Monterrosa, R.G. 2010. Designing and evaluation of sodium selenite nanoparticles in vitro to improve selenium absorption in ruminants. Vet Res Commun. 34:71–79.
- Ramírez-Bribiesca, J.E., Soto-Sánchez A., Hernández, M., Salinas-Chavira J., Galaviz-Rodríguez J., Cruz-Monterrosa, R.G., Vargas S. 2010. Influence of Pleurotus ostreatus spent corn Straw on performance and carcass characteristics of feedlot pelibuey lambs. Ind. J. A.S. 80: 34-36.
- Cruz-Monterrosa R.G., Ramírez-Bribiesca J.E., Cobos-Peralta M., Revilla-Vázquez A.L., Crosby-Galván M.M., Cordero-Mora J.L. 2011. Selenium availability complemented with Sodium selenite and selenomethionine in lambs. Rev. Vet. Zulia
- Cruz Monterrosa, R.G. Ramírez-Bribiesca, J.E., Guerrero-Legarreta M.I., Hernández-Mendo O. 2011. Carotenoids digestion in African Stargrass (*Cynodon plectostachyus*) determined with *In Situ techniques in cattle*. . Tropical and Subtropical Agro ecosystems.14:1011-1017.
- Diagnostico y suplementación de minerales en ovinos. Ponencia presentada en el Evento: “Ciclo de Conferencias en Producción Ovina” en la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Tecamachalco, Puebla. Abril de 2011.
- Importancia de los minerales en los sistemas de producción de bovinos en el trópico. Ponencia presentada en el marco de la “XVII Semana Nacional de Ciencia y Tecnología”, en el Centro de Bachillerato Tecnológico Agropecuario No.183. De San Juan Cacahuatpec, Oaxaca. Octubre, 2011.



Casa abierta al tiempo

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA

ACTA DE DISERTACIÓN PÚBLICA

No. 00101

Matricula: 200382131

EFFECTO DE PIGMENTOS
CAROTENOIDES Y PECTINA EN LA
CALIDAD DE LA GRASA DE
BOVINOS.

En México, D.F., se presentaron a las 13:30 horas del día 16 del mes de julio del año 2012 en la Unidad Iztapalapa de la Universidad Autónoma Metropolitana, los suscritos miembros del jurado:

DRA. MINERVA MUÑOZ GUTIERREZ
DR. OMAR HERNANDEZ MENDO
DR. DAVID HERNANDEZ SANCHEZ
DR. MIGUEL MELLADO BOSQUE

Bajo la Presidencia de la primera y con carácter de Secretario el último, se reunieron a la presentación de la Disertación Pública cuya denominación aparece al margen, para la obtención del grado de:

DOCTORA EN BIOTECNOLOGIA

DE: ROSY GABRIELA CRUZ MONTERROSA

y de acuerdo con el artículo 78 fracción IV del Reglamento de Estudios Superiores de la Universidad Autónoma Metropolitana, los miembros del jurado resolvieron:

APROBAR

Acto continuo, la presidenta del jurado comunicó a la interesada el resultado de la evaluación y, en caso aprobatorio, le fue tomada la protesta.



ROSY GABRIELA CRUZ MONTERROSA
ALUMNA

REVISÓ

LIC. JULIO CESAR DE LARA ISASSI
DIRECTOR DE SISTEMAS ESCOLARES

DIRECTOR DE LA DIVISIÓN DE CBS

DR. RUBEN ROMAN RAMOS

PRESIDENTA

DRA. MINERVA MUÑOZ GUTIERREZ

VOCAL

DR. OMAR HERNANDEZ MENDO

VOCAL

DR. DAVID HERNANDEZ SANCHEZ

SECRETARIO

DR. MIGUEL MELLADO BOSQUE