

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE CHIHUAHUA

FACULTAD DE ZOOTECNIA Y ECOLOGÍA

SECRETARÍA DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO



**EFFECTO DEL ÁCIDO FERÚLICO SOBRE EL pH RUMINAL, CONSUMO,
FLUJO Y DIGESTIBILIDAD DE NUTRIENTES DE VAQUILLAS EN
FINALIZACIÓN**

POR:

M. V. Z. LUIS FELIPE SOTO CASAS

TESIS PRESENTADA COMO REQUISITO PARA OBTENER EL GRADO DE

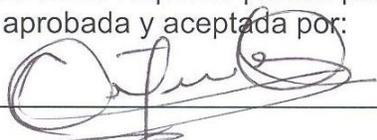
Maestro en Ciencias

Área Mayor: Nutrición Animal

CHIHUAHUA, CHIH., MÉXICO

FEBRERO DE 2017

Efecto del ácido ferúlico sobre el pH ruminal, consumo, flujo y digestibilidad de nutrientes de vaquillas en finalización. Tesis presentada por Luis Felipe Soto Casas como requisito parcial para obtener el grado de Maestro en Ciencias, ha sido aprobada y aceptada por:



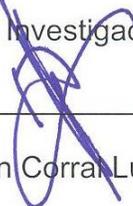
Ph. D. Carlos Ortega Ochoa

Director de la Facultad de Zootecnia y Ecología



Ph. D. Alma Delia Alarcón Rojo

Secretaria de Investigación y Posgrado



D. Ph. Agustín Corral Luna

Coordinador Académico



D. Ph. Francisco Castillo Rangel

Presidente

17-Febrero-2017

Fecha

Comité:

D. Ph. Francisco Castillo Rangel

Ph. D. Guillermo Villalobos Villalobos

Dr. Juan Ángel Ortega Gutiérrez

D. Ph. Carlos Rodríguez Muela

© Derechos Reservados
LUIS FELIPE SOTO CASAS
DIRECCIÓN: PERIFÉRICO
FRANCISCO R. ALMADA KM. 1,
CHIHUAHUA, CHIH., MÉXICO
C.P. 31453

FEBRERO 2017

AGRADECIMIENTOS

Al CONACyT, por haberme brindado el apoyo económico para realizar este programa de maestría en ciencias.

A laboratorios Minkab, por el soporte técnico y apoyo financiero brindados.

A mi asesor, D. Ph. Francisco Castillo Rangel, por su apoyo durante todo el programa de maestría.

A José Alfredo Villarreal Balderrama, por el apoyo con los análisis de laboratorio

A mis amigos, Marco Antonio, Octavio, Pablo, Raúl y Michael por haberme brindado su amistad.

Al personal de las unidades de producción, administrativo, bibliotecario y laboratorio.

DEDICATORIA

A mi hijo Sebastián Soto por haber permitido robarme el tiempo que debí estar con él.

A mi esposa Blanca Aracely Gallegos, mi compañera de vida, por su amor y su apoyo incondicional.

A mi padre Jesús Soto y madre Rosario Casas, por darme la vida, por los sacrificios que realizaron como padres, por siempre poner como prioridad mi estudio.

A mi hermano Ramón Soto, mi compadre, por su apoyo y motivación que siempre me brinda.

RESUMEN

EFFECTO DEL ÁCIDO FERÚLICO SOBRE EL pH RUMINAL, CONSUMO, FLUJO Y DIGESTIBILIDAD DE NUTRIENTES DE VAQUILLAS EN FINALIZACIÓN

POR:

M. V. Z. LUIS FELIPE SOTO CASAS

Maestría en Ciencias en Producción Animal

Secretaría de Investigación y Posgrado

Facultad de Zootecnia y Ecología

Universidad Autónoma de Chihuahua

Presidente: D. Ph. Francisco Castillo Rangel

El objetivo fue determinar el efecto del ácido ferúlico (AF) sobre el pH ruminal, consumo de MS (CMS), digestibilidad aparente y flujo de nutrientes a duodeno de vaquillas alimentadas con una dieta de finalización. Se usaron diez vaquillas de la craza Hereford x Angus (445.8 ± 57.6 kg) con fístula ruminal y duodenal. La información se analizó mediante un diseño en cuadrado latino 5×5 repetido en renglón (Flujo de nutrientes sin repetición), considerando cinco periodos y tratamientos: Dieta basal + 0 (AF0; Control), 3.5 (AF3.5), 7 (AF7), 10.5 (AF10.5) y 14 (AF14) mg/kg de PV de AF. El AF incrementó linealmente ($P < 0.01$) el pH ruminal (AF0: 6.45; AF3.5: 6.56; AF7: 6.63; AF10.5: 6.62; AF14: 6.70), tuvo un efecto cuadrático ($P < 0.05$) sobre el CMS (AF0: 10.59; AF3.5: 11.34; AF7: 12.42; AF10.5: 11.31; AF14: 10.81 kg/d) y CMS digestible (AF0: 8.32; AF3.5: 8.97; AF7: 9.74; AF10.5: 8.50; AF14: 8.32 kg/d). La digestibilidad aparente disminuyó ($P < 0.05$) solo en AF10.5. El flujo de nutrientes a duodeno

no fue diferente ($P > 0.05$) entre tratamientos. El AF a dosis de entre 3.5 – 7 mg/kg de PV incrementa el pH ruminal, CMS y CMS digestible sin afectar la digestibilidad aparente, por lo cual es recomendada.

ABSTRACT

EFFECT OF FERULIC ACID ON RUMINAL PH, NUTRIENT INTAKE, FLOW AND DIGESTIBILITY IN FINISHING HEIFERS

BY:

M. V. Z. LUIS FELIPE SOTO CASAS

The objective was to determine the effect of ferulic acid (FA) on ruminal pH, DMI, apparent digestibility and nutrient duodenal flow in finishing heifers. Ten Hereford × Angus crossbreed heifers (445.8 ± 57.6 kg) cannulated on rumen and duodenum were used. Data was analyzed in a 5×5 latin square design repeated in line (nutrient duodenal flow did not considered repetition), the design considered the effect of 5 periods and 5 treatments. Treatments were: Basal diet + 0 (FA0; Control), 3.5 (FA3.5), 7 (FA7), 10.5 (FA10.5) y 14 (FA14) mg/kg of BW of FA. Ferulic acid linearly increased ($P < 0.01$) ruminal pH (FA0: 6.45; FA3.5: 6.56; FA7: 6.63; FA10.5: 6.62; FA14: 6.70), and had a cuadratic effect ($P < 0.05$) on DMI (FA0: 10.59; FA3.5: 11.34; FA7: 12.42; FA10.5: 11.31; FA14: 10.81 kg/d) and on digestible dry matter intake (FA0: 8.32; FA3.5: 8.97; FA7: 9.74; FA10.5: 8.50; FA14: 8.32 kg/d). Apparent digestibility decreased ($P < 0.05$) for FA10.5 treatment. Nutrient duodenal flow was not different ($P > 0.05$) among treatments. Becasue an increase in ruminal pH, DMI and digestible dry matter intake without affectig apparent digestibilty, FA a dose between 3.5 7 mg/kg of BW is recomendad.



CONTENIDO

	Página
RESUMEN	vi
ABSTRACT.....	viii
LISTA DE CUADROS	xi
LISTA DE GRÁFICAS.....	xii
INTRODUCCIÓN	1
REVISIÓN DE LITERATURA.....	3
Situación Actual de la Producción de Carne en México	3
Agonistas β -Adrenérgicos.....	3
Características.....	3
Obtención y estructura química	6
Mecanismo de acción.....	6
Toxicidad, cinética y residualidad.....	7
Hallazgos en la producción	8
Modulación de poblaciones bacterianas.....	8
Ácido Ferúlico	9
Características.....	9
Obtención y estructura química	10
Mecanismo de acción.....	10
Toxicidad, cinética y residualidad.....	10
Hallazgos en la producción	11



Modulación de poblaciones bacterianas.....	13
MATERIALES Y MÉTODOS.....	15
Animales.....	15
Alimentación	16
Tratamientos.....	16
Variables Evaluadas y Toma de Muestras	16
pH ruminal	16
Consumo materia seca.....	18
Digestibilidad aparente	18
Flujo de nutrientes	19
Análisis Estadístico.....	21
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	23
pH Ruminal.....	23
Consumo de materia seca.....	26
Digestibilidad aparente	29
Flujo de nutrientes a duodeno	31
CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	36
LITERATURA CITADA	37



LISTA DE CUADROS

Cuadro		Página
1	Ingredientes y composición química de la dieta experimental (base seca).....	17
2	Efecto del AF sobre el consumo y digestibilidad en vaquillas alimentadas con una dieta de finalización.....	27
3	Efecto del AF sobre el consumo de nutrientes digestibles en vaquillas alimentadas con una dieta de finalización.....	30



LISTA DE GRÁFICAS

Gráfica		Página
1	Crecimiento poblacional en México.....	4
2	Crecimiento de producción de carne en México.....	5
3	Medias (\pm EE) del pH ruminal en vaquillas suplementadas con AF en dietas de finalización.....	24
4	Medias (\pm EE) del pH ruminal en un periodo de 24 h en vaquillas suplementadas con AF en dietas de finalización	25
5	Medias (\pm EE) del consumo, degradabilidad ruminal y flujo a duodeno en vaquillas (n = 5) suplementadas con AF en dietas de finalización.....	32
6	Medias (\pm EE) del flujo de N a duodeno en vaquillas (n = 5) suplementadas con AF en dietas de finalización.....	33



INTRODUCCIÓN

En México, se producen 1.8 millones de toneladas de carne de res al año (SIAP, 2016), sin embargo la importación anual representa el 15 % de la producción (FND, 2014). Estas situaciones exigen intensificar la producción de carne con el fin de lograr una mayor producción de manera eficiente. En la etapa final de la engorda el uso de agonistas β -adrenérgicos ($A\beta A$) es muy común, éstos fármacos estimulan receptores β -adrenérgicos a nivel tejido, modificando el metabolismo celular, incrementan la GDP, reducen el consumo de MS (CMS) y mejoran la eficiencia alimenticia. Además, incrementan el rendimiento de la canal, el área del ojo de la costilla y reducen la deposición de grasa; sin embargo, reducen el grado de marmoleo e incrementan la resistencia al corte, con lo cual se reduce la calidad de la canal (Lean *et al.*, 2014), y sus residuos en tejido representan un riesgo para el consumidor final (Meermans *et al.*, 1998).

Una alternativa es el ácido ferúlico (AF) que es un compuesto fenólico presente en la pared celular de plantas (Kroon y Williamson, 1999). En su forma libre, el AF es un potente antioxidante que elimina los radicales libres y mejora la respuesta al estrés celular (Mancuso y Santangelo, 2014). Este compuesto presenta una estructura química similar a $A\beta A$, con la cual estimula la proliferación y diferenciación de células satélite de bovinos (Platt *et al.*, 2013), y ha mostrado un efecto similar a los $A\beta A$ en la fase de finalización, incrementando el comportamiento productivo de animales mejorando características de canal en cerdos (Herrera-Herrera *et al.*, 2011) y bovinos



(González-Ríos *et al.*, 2013), con la ventaja adicional de ser un producto de origen natural.

Se ha observado que el efecto de los A β A no se limita al tejido, estos compuestos modificaron la fermentación ruminal tanto *in vitro* como *in vivo* (Walker y Drouillard, 2010), adicionalmente reducen el consumo y la digestibilidad de los nutrientes en ovinos (Macías-Cruz *et al.*, 2013), se supone que dicho impacto se debió a la modulación de poblaciones de microorganismos ruminales (Lyte y Ernst, 1992).

La aplicación de AF en pruebas de fermentación *in vitro* disminuyó el crecimiento, la actividad enzimática y la motilidad de bacterias, protozoarios y hongos (Akin, 1982; Akin y Rigsby, 1987). Adicionalmente de manera *in vitro* el AF redujo la digestión de forraje (Theodorou *et al.*, 1986) y carbohidratos estructurales aislados (Borneman *et al.*, 1986; Ushida *et al.* 1990).

Los efectos negativos del AF sobre microorganismos y digestibilidad únicamente han sido reportados *in vitro*, adicionalmente dada su capacidad antioxidante. La hipótesis fue que la suplementación de AF directamente en rumen tiene importantes implicaciones digestivas, en especial en dietas de finalización. El objetivo fue conocer el efecto del AF sobre pH ruminal, consumo, digestibilidad y flujo de nutrientes. El objetivo específico es proponer una dosis de AF en base a las modificaciones digestivas observadas.



REVISIÓN DE LITERATURA

Situación Actual de la Producción de Carne en México

En México, la producción de bovinos para carne en sistemas intensivos es de suma importancia ya que la alta demanda del producto cárnico para consumo humano es cada día mayor debido al incremento poblacional (INEGI, 2016; Gráfica 1).

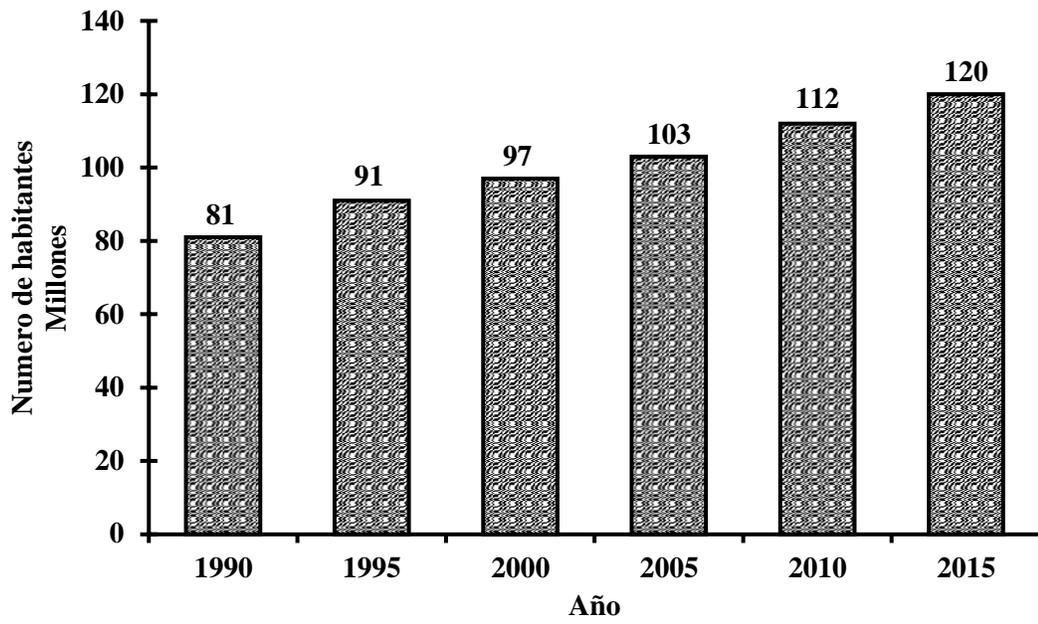
Dentro del subsector pecuario en el país la producción de bovino (carne y leche) es la más importante, ya que genera el 43 % del valor total del mismo (FND, 2014). Según datos del Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera (SIAP, 2016), en el año 2013 se obtuvieron por este concepto 74 mil mdp, en cuanto a producción de carne en canal, mientras que en 2014 se obtuvieron casi 100 mil mdp de acuerdo con SIAP (2016). México produce alrededor de 1.8 millones de toneladas de carne de res al año (Gráfica 2).

De acuerdo con el Censo Agropecuario 2007, en México existen 1.1 millones de unidades de producción de ganado bovino. El 58 % de éstas son para engorda (FND, 2014).

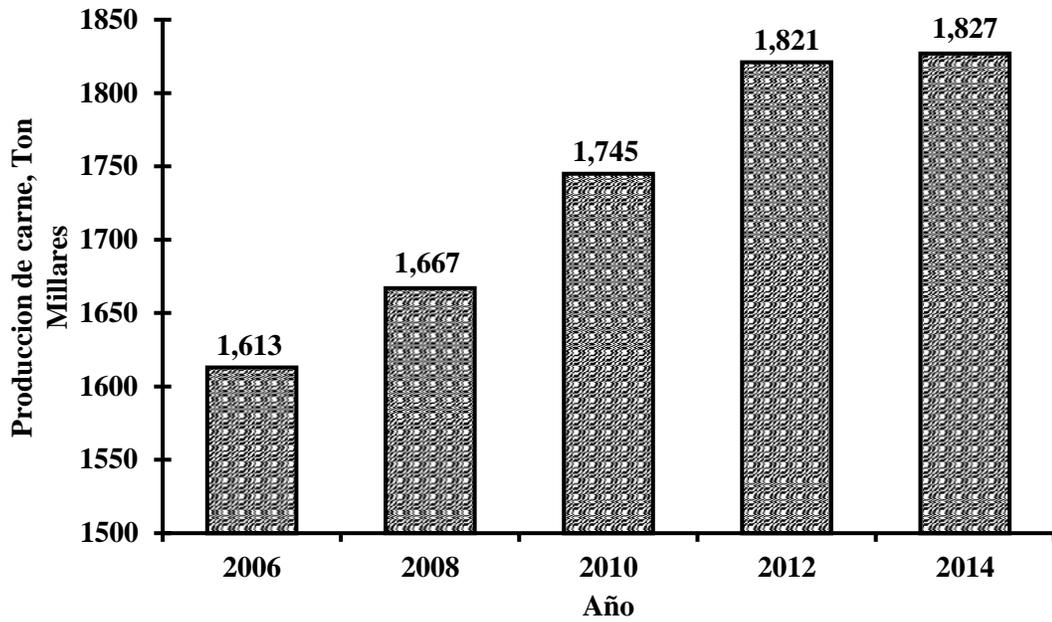
El objetivo de la industria de la carne es producir un producto de calidad consistente y con alta eficiencia tanto como sea posible (Phelps *et al.*, 2015). Constantemente se buscan nuevas alternativas para promover el crecimiento y mejorar las características de la canal (Beerman, 2009). Se han explorado alternativas con aditivos sintéticos y naturales, las cuales están directamente relacionadas con una mejora en la eficiencia del sistema de producción.

Agonistas β -Adrenérgicos

Características. Los A β A, son fármacos clasificados como feniletilamina,



Gráfica 1. Crecimiento poblacional en México (Adaptado de INEGI, 2016)



Gráfica 2. Crecimiento de producción de carne en México (Adaptado de SIAP, 2016)



inicialmente utilizados en humanos como broncodilatadores (Centner *et al.*, 2014). Desde la década de 1960, los A β A han sido utilizados en los sistemas de engorda intensivos para mejorar el comportamiento productivo y rendimiento en canal (Mersmann, 1998; Smith, 1998). En México la utilización de los A β A se encuentra regulado por NOM-061-ZOO-1999, la cual prohíbe el uso de clorhidrato de clenbuterol y regula el uso de clorhidrato de ractopamina y zilpaterol.

Obtención y estructura química. Los A β A son compuestos sintéticos de estructura química similar a las catecolaminas naturales (adrenalina y noradrenalina). Los A β A están estructurados por un grupo alifático y uno aromático; además su principal característica es un grupo hidroxilo con orientación levógiro en el carbono β del grupo alifático. Los diferentes sustituyentes en la estructura básica de los A β A les confieren especificidad por los destinos receptores β -adrenérgicos (Proteínas G: β -1, β -2 y β -3), así como diferente farmacocinética, distribución a los tejidos y permanencia en los mismos (Mersmann, 1998; Smith, 1998).

Mecanismo de acción. El clorhidrato de clenbuterol y zilpaterol muestran especificidad de unión por receptores β -2, los cuales en bovinos principalmente se localizan en músculo esquelético y tejido adiposo (Sillence y Matthews, 1994). Por su parte el clorhidrato de ractopamina muestra especificidad por receptores β -1, los cuales están presentes en menor proporción en bovinos (Shappell *et al.*, 2000). Del complejo agonista-receptor formado, se desprende la subunidad α , que activa a la enzima Adenil-ciclase, ésta a su vez incrementa el AMP-cíclico, el cual es un mensajero intracelular



que activa a la Proteinkinasa A. La subsecuente acción de la Proteinkinasa A se relaciona con el incremento de la síntesis proteica, lipólisis y glucogenólisis, así como con la reducción de la proteólisis, lipogénesis y glucogenogénesis (Beermann, 2002; Mersmann, 2002).

Todos los A β A en menor grado estimulan receptores β -1 localizados en corazón (estimulando contracción) y β -2 localizados en vasos sanguíneos (estimulando vasodilatación), con lo cual incrementa el flujo sanguíneo que implica un incremento en la disponibilidad de nutrientes (Mersmann, 1998). Sin embargo la estimulación de receptores β -2 localizados a lo largo del tracto gastrointestinal reduce su motilidad y secreción (McIntyre y Thompson, 1992). Los A β A estimulan la proliferación y diferenciación de células satélite mediante un mecanismo ajeno a receptores β -adrenérgicos (Shappell *et al.*, 2000).

Toxicidad, cinética y residualidad. En bovinos los A β A suplementados vía oral son absorbidos rápidamente presentando un pico en la concentración plasmática de 1 - 4 h, son eliminados principalmente por orina a partir de las 4 h, tienen la capacidad de difundirse a todos los tejidos (Smith, 1998). El clorhidrato de clenbuterol es el A β A más liposoluble y se caracteriza por mantener un pico de 7 h en la concentración plasmática, la suplementación diaria genera un efecto de acumulación en la concentración plasmática y en los tejidos.

La vida media del clorhidrato de ractopamina y zilpaterol es menor a 8 h, la eliminación para niveles inferiores al MRL (maximal residue limit, por sus siglas en inglés) de hígado y tejido adiposo ocurre en menos de 48 h (Smith, 1998; FDA 2003; FDA 2006). El clorhidrato de clenbuterol es el A β A más



efectivo, sin embargo, esto lo vuelve más tóxico, la dosis letal media (DL50) en ratones fue de 147 mg/kg de PV (FAO/WHO, 1998), la cual es superior en ractopamina (>2000 mg/kg en ratones; FDA 2003) y zilpaterol (>1000 mg/kg en ratones; FDA 2006).

Hallazgos en la producción. Los beneficios productivos de utilizar A β A en la etapa de finalización de corral de engorda, en especial durante los últimos 30 d está bien documentado. El clorhidrato de ractopamina y zilpaterol incrementan la GDP en 24.2 y 10.5 % (Scramlin *et al.*, 2010) y tienden a reducir el CMS en 1.62 y 2.63 % (Arp *et al.*, 2014), respectivamente; mejoran ($P < 0.05$) la eficiencia alimenticia en 9.7 y 14.2 %, además de incrementar el peso de la canal en 1.68 y 3.28 % y área del ojo de la costilla en 3.67 y 8.29 % (Martin *et al.*, 2014); de la misma manera reducen la grasa dorsal en 1.35 y 7.43 %, así como el grado de marmoleo en 0.2 y 3.4 % (Garmyn *et al.*, 2014); aunado a ello impactan en la dureza de la carne al incrementar la fuerza (2.94 % y 16.65 %) y la resistencia al corte en 4.79 y 23.97 % (Arp *et al.*, 2013), respectivamente.

Modulación de poblaciones bacterianas. Los efectos de las catecolaminas y A β A no se limitan a los tejidos de los mamíferos. Lyte y Ernst (1992) encontraron que las catecolaminas favorecen el crecimiento de bacterias Gram-negativas (*in vitro*), el efecto fue mayor para norepinefrina siendo de menor grado para epinefrina y dopamina.

En una prueba de fermentación ruminal Walker y Drouillard (2010) indican que el clorhidrato de ractopamina tanto *in vivo* como *in vitro* tiene un efecto negativo sobre la fermentación y digestibilidad de los nutrientes, debido a que disminuye la concentración de amoníaco y aminoácidos ruminales, los



cuales son intermediarios de la degradación de proteínas; esto se asocia a un efecto sobre poblaciones ruminales proteolíticas. Macías-Cruz *et al.* (2013) indican que la suplementación con clorhidrato de zilpaterol durante 15 d redujo el consumo y la digestibilidad de los nutrientes, sin embargo al suplementarse durante 30 d estos parámetros incrementaron.

Ácido Ferúlico

Características. El ácido ferúlico (AF) es un compuesto fenólico clasificado como hidroxicinámico (4-hidroxi-3-metoxicinámico), se encuentra en la pared celular de frutas, verduras, granos y cereales principalmente (Kroon y Williamson, 1999). A medida que las plantas maduran les proporciona fuerza, rigidez y protección contra ataques de microorganismos (Ou y Kwok, 2004), sin embargo, une carbohidratos parcialmente digestibles a lignina, volviéndolos indigestibles (Jung y Allen, 1995).

La degradación de carbohidratos de la pared celular es un proceso clave para liberar la energía, la presencia de compuestos fenólicos y la ausencia de las enzimas necesarias para romper estos enlaces éster, en especial del AF, impiden su degradación (Goldstone *et al.*, 2010). Los microorganismos *Fibrobacter succinogenes* y *Butyrivibrio fibrosolvens* (Bacterias Gram-negativas) poseen esterasas capaces de romper estos enlaces, sin embargo, en el medio ambiente ruminal este proceso no ocurre de manera eficiente (Besle *et al.*, 1995). La adición directa de la enzima feruloil esterasa incrementa la liberación de AF pero no la digestibilidad (Yu *et al.*, 2002). La combinación de esta enzima con celulasas, pectinasas y xilanasas incrementa la digestibilidad de dietas



altas en fibra, así como la respuesta productiva en rumiantes (Beauchemin *et al.*, 1995) y en monogástricos (Jayarman *et al.*, 2015).

Obtención y estructura química. El AF rara vez se encuentra en estado libre (Jung y Allen, 1995). En México se obtiene a partir del nejayote, que es un residuo de la nixtamalización del maíz, con un rendimiento promedio del 0.67 % (Navarro-Ocaña *et al.*, 2009). En su forma libre el AF presenta una estructura química con tres sitios capaces de contribuir a eliminar los radicales libres, el grupo 3 metoxi, 4 hidroxilo y el grupo carboxilo, el cual además tiene afinidad por la bicapa lipídica (Srinivasan *et al.*, 2007).

Mecanismo de acción. En los últimos años, diferentes estudios han demostrado que el AF actúa como un potente antioxidante al eliminar los radicales libres y mejorar la respuesta al estrés celular, estimulando los sistemas citoprotectores e inhibiendo la activación de enzimas citotóxicas (Mancuso y Santangelo, 2014). En humanos y animales de laboratorio el AF se ha reportado como un fármaco potencialmente benéfico para la salud, como antiinflamatorio, antiaterogénico, antidiabético, antienvjecimiento, neuroprotector, radioprotector y hepatoprotector (Kumar y Pruthi, 2014).

Toxicidad, cinética y residualidad. El AF es un compuesto de baja toxicidad, la dosis letal media (DL50) en ratones machos y hembras es de 2,445 y 2,113 mg/kg de PV, respectivamente (Tada *et al.*, 1999). En humanos y animales de laboratorio la administración oral de AF resulta en una rápida absorción, con un pico en la concentración plasmática a los 30 min. Se ha reportado que en ratas la eliminación ocurre vía renal, regresa a niveles basales en menos de 2 h mientras que en humanos entre 7 y 9 h. Sin embargo, en



ambos casos la recuperación total es menor al 5 % del AF consumido (Mancuso y Santangelo, 2014).

Soberon *et al.* (2012a, 2012b) administraron AF vía oral en rumiantes (100, 200 y 300 mg/kg de PV en ovinos; 250 mg/kg de PV en bovinos), ellos reportan un incremento drástico en la concentración de AF en rumen durante los primeros 30 min posteriores de la dosificación y un regreso a un nivel basal a las 4 h. En plasma apareció a los 15 min y regresó a un nivel basal a las 4 h, mientras que en la orina apareció a los 45 min con un pico a las 2 h con 45 min y desapareció a las 10 h. La concentración de AF en heces no fue diferente a los niveles basales de animales que no consumieron AF libre. En leche de bovinos, se encontró en mayor concentración a las 6 h y esta regresó a un nivel basal a las 14 h. No existe información referente al tiempo de desaparición del AF en tejido muscular, pero su baja recuperación sugiere utilización, captación y metabolismo tanto a nivel ruminal como en tejido.

Resultados de nuestro equipo de investigación señalan que en bovinos de carne la administración intraruminal de AF resultó en picos de máxima expresión a las 1 h, 15 min y 4 h post dosificación, para líquido ruminal, sangre y orina, respectivamente. Mientras que el retorno a sus concentraciones basales fue a las 12 h post dosificación, para líquido ruminal y plasma, y 24 h para orina (González-Plascencia, 2015).

Hallazgos en la producción. La información sobre el uso de AF en animales de producción es limitada. Gorewit (1983) indica que la administración intravenosa de AF (0.3 y 1.7 mg/kg de PV) en vaquillas Holstein estimula la secreción pituitaria de prolactina y hormona del crecimiento, sin embargo, es un



estímulo momentáneo regresando a niveles basales en 15 y 60 min respectivamente.

Platt *et al.* (2013) cultivaron de manera *in vitro* células satélite del músculo *Longissimus dorsi* de bovino, indicaron que el AF a dosis de 10 µg obtuvo resultados similares a clorhidrato de zilpaterol a dosis de 1 y 10 µg, en la transcripción de genes relacionados con la proliferación y diferenciación de células satélite de bovinos, a partir de esto, las subsecuentes investigaciones se han centrado en el uso de AF en animales para abasto.

Herrera-Herrera *et al.* (2011) suplementaron AF en el alimento de cerdos en finalización (28 d) a dosis de 12 y 15 mg/kg de alimento (0.4 y 0.5 mg/kg de PV; 98 y 80 % de pureza, respectivamente), encontraron un efecto similar en el comportamiento productivo y características de canal de cerdos suplementados con 5 mg/kg alimento (0.17 mg/kg de PV) de Clorhidrato de Ractopamina.

Soberon *et al.* (2012a) suplementaron AF vía oral en ovinos con dietas altas en forraje, a dosis de 0, 100, 200 y 300 mg/kg de PV y reportaron un efecto cuadrático sobre el CMS (1.25, 1.41, 1.41 y 1.29 kg/d, respectivamente). Adicionalmente realizaron un estudio de digestibilidad *in vitro*, encontrando que las mismas concentraciones de AF modificaron de manera significativa la digestibilidad de la FDN (56.0, 53.1, 60.7 y 51.0 %, respectivamente).

González-Ríos *et al.* (2013) indican que suplementar AF en toretes en finalización (30 d) a dosis de 7 mg/kg de PV proporciona un rendimiento en canal similar al obtenido por animales suplementados con Clorhidrato de Zilpaterol 0.18 mg/kg de PV. Además el uso de AF retarda el deterioro del color



rojo cereza de la carne refrigerada, lo que se relaciona con una menor degradación oxidativa, proporcionando un mayor tiempo de vida de anaquel.

La suplementación de AF en cerdos en finalización (28 d) a dosis de 100 mg/kg de alimento (4 mg/kg de PV), así como la combinación con Vit E a dosis de 400 mg/kg de alimento (16 mg/kg de PV) mejoraron la calidad de la carne al mantener el pH y redujeron la fuerza al corte. Además mejoraron la capacidad antioxidante al incrementar enzimas relacionadas con la eliminación de radicales libres (Li *et al.*, 2015).

Modulación de poblaciones de bacterianas. El AF es capaz de modular poblaciones microbiales. La aplicación de AF en pruebas de fermentación *in vitro* reduce el crecimiento de bacterias, además reduce la motilidad de protozoarios (Akin, 1982). Akin y Rigsby (1987) reportaron que el AF disminuye la capacidad de colonizar y degradar fibra de los hongos ruminales. Adicionalmente de manera *in vitro* el AF redujo la digestión de forraje (Theodorou *et al.*, 1986) y carbohidratos estructurales aislados (Borneman *et al.*, 1986; Ushida *et al.* 1990).

Cultivos de microorganismos ruminales aislados indican que el AF inhibe selectivamente *Ruminococcus flavefaciens* y *Bacteroides succinogenes* que son bacterias Gram-negativas y son las principales celulíticas (Chesson *et al.*, 1982). Adicionalmente Borges *et al.* (2013) estudiaron el mecanismo de acción del AF sobre las bacterias Gram-negativas: *Escherichia coli* y *Pseudomonas aeruginosa*, así como en las bacterias Gram-positivas: *Staphylococcus aureus* y *Listeria monocytogenes* y encontraron que tanto la actividad bacteriostática



como bactericida del AF se asocia a la afinidad por la bicapa lipídica de bacterias Gram-negativas.

Por su parte, Dueñas *et al.* (2015) encontraron, tanto *in vitro* como *in vivo* que los compuestos fenólicos pueden modular las poblaciones bacterianas intestinales, reduciendo el número y la concentración de poblaciones potencialmente patógenas, incluyendo *Clostridium perfringens*, *Clostridium histolyticum* y *Bacteroides spp* (Gram-negativas) favoreciendo la concentración de *Bifidobacterium spp* y *Lactobacilos spp* (Gram-positivas) a nivel intestinal, sin embargo no existe información disponible acerca del efecto del AF sobre poblaciones de microorganismos ruminales.



MATERIALES Y MÉTODOS

El experimento se realizó en la unidad metabólica de rumiantes de la Facultad de Zootecnia y Ecología de la Universidad Autónoma de Chihuahua, Chihuahua, México. Todos los procedimientos empleados fueron de acuerdo con las Normas Oficiales Mexicanas NOM-051-ZOO-1995 (Trato humanitario en la movilización de animales) y la NOM-061-ZOO-1999 (Especificaciones de los alimentos para consumo animal), además de seguir el Código de Bioética y Reglamento de Bienestar Animal de la Facultad de Zootecnia y Ecología de la Universidad Autónoma de Chihuahua.

El experimento tuvo una duración de 190 d. Durante 60 d los animales recibieron adiestramiento para su manejo en toma de muestras, después fueron sometidos a la cirugía y la recuperación fue de 30 d; posteriormente se dieron 15 d de adaptación paulatina hasta llegar a una dieta con 80 % de concentrado. La fase experimental tuvo una duración de 85 d. Ésta se dividió en cinco periodos experimentales con una duración de 14 d cada uno, 10 d destinados a la adaptación al suplemento y 4 d para la toma de muestras.

Animales

Se usaron 10 vaquillas (de la cruce entre las razas Hereford x Angus; con una edad promedio de 24 meses y un peso inicial de 445.8 ± 57.6 kg) fistuladas en rumen, cinco contaban además con fístula duodenal. Al inicio del experimento las vaquillas fueron identificadas (Arete Bandera[®]; Allflex), vacunadas (Bacterina triple bovina[®]; Bio-Zoo), desparasitadas (Iverfull[®]; Arandas) y vitaminadas (Vigatol ADE Fuerte[®]; Bayer).



Alimentación

Los animales fueron alojados en corraletas individuales donde se ofreció alimento dos veces al día (0800 y 1700 h). Se ajustó a un rechazo del 5-10 %. Los animales contaron con agua a libre acceso. La dieta basal fue elaborada con ingredientes regionales, manteniendo una relación concentrado:forraje 80:20, dicha dieta fue formulada para contener al menos 9.7 % de PC y 2.884 Mcal de EM/kg de MS (Cuadro 1).

Tratamientos

Las vaquillas fueron asignadas de manera aleatoria a uno de cinco tratamientos, los cuales fueron cuantitativos y equidistantes: siendo estos: 1) AF0 (Dieta basal; Control); 2) AF3.5 (3.5 mg/kg de PV de AF (Laboratorios Minkab, Guadalajara, Jalisco, México) + dieta basal); 3) AF7 (7 mg/kg de PV de AF + dieta basal); 4) AF10.5 (10.5 mg/kg de PV de AF + dieta basal); 5) AF14 (14 mg/kg de PV de AF + dieta basal). El AF fue suministrado diariamente antes del ofrecimiento matutino de alimento a través de la fístula ruminal.

Variables Evaluadas

pH ruminal . El pH ruminal fue medido el primer día de muestreo (Día 10) de cada periodo experimental. Se obtuvieron muestras de líquido ruminal (200 ml) en diferentes horarios (0, 1, 2, 4, 8, 12, 18 y 24 h) después del ofrecimiento matutino de alimento (0800 h). Inmediatamente después de colectar el líquido ruminal se determinó el pH utilizando un potenciómetro UltraBASIC pH/mV Meter®.



Cuadro 1. Ingredientes y composición química de la dieta experimental
(base seca)

Ingrediente	%
Maíz rolado	67.5
Paja de trigo	19
Harinolina	7.2
Melaza	3
Premezcla mineral ¹	1
Carbonato de calcio	0.8
Bicarbonato de sodio	0.6
Cloruro de sodio	0.5
Óxido de magnesio	0.4
Composición química calculada	
PC, %	9.7
EM, Mcal/kg MS	2.884
Ca, %	0.494
P, %	0.412

¹ Premezcla mineral: 12 % P, 11.5 % Ca, 0.6 % Mg, 2,160 ppm Mn, 2,850 ppm Zn, 580 ppm Fe, 1,100 ppm Cu, 102 ppm I, 13 ppm Co, 9 ppm Se, 220,000 IU/kg Vitamina A, 24,500 IU/kg Vitamina D y 30 IU/kg Vitamina E



Consumo de materia seca. El CMS fue medido cuatro días previos al muestreo (Días 7-10) de cada periodo experimental. De la misma manera se tomaron muestras del forraje y concentrado para determinar MS, MO y N (métodos 934.01, 942.05 y 976.05 respectivamente; AOAC, 2003), así como FDN (Van Soest et al., 1991; Ankom 200[®], Ankom Technology).

Digestibilidad aparente. Se evaluó la digestibilidad de la MS (DMS), digestibilidad de la PC (DPC) y la digestibilidad de FDN (DFDN), usando fibra detergente ácido indigestible (FDAI) como marcador interno (Penning y Johnson, 1983). Para ello se tomaron muestras de heces directamente de recto en los días 11 (0800, 1000, 1200, 1400 h), 12 (1600, 1800, 2000, 2200 h) y 14 (0000, 0200, 0400 y 0600 h) de cada periodo (Pond et al., 1987). Las muestras fueron congeladas a -20 °C para su posterior análisis. Además de ello se calculó el consumo de: materia seca digestible (CMSD) proteína cruda digestible (CPCD) y fibra detergente neutro digestible (CFDND).

Las muestras de heces fueron descongeladas y luego deshidratadas en estufa de aire forzado TELCHO[®] a una temperatura de 60 °C. Posteriormente fueron molidas (Criba de 1 mm; molino Wiley[®], Thomas Scientific), para luego mezclar 5 g de cada muestra (hora).

Se determinó la PC usando el método 976.05 (AOAC, 2003; Micro-Kjeldahl[®], NOVATECH), así como la concentración de FDN (Van Soest *et al.*, 1991; Ankom 200[®], Ankom Technology). Finalmente con la concentración de FDAI se calculó la digestibilidad de los nutrientes utilizando las siguientes fórmulas (Schneider y Flatt, 1975):



$$\text{DMS \%} = 100 - \left[100 * \frac{(\% \text{ FDAI en alimento})}{(\% \text{ FDAI en heces})} \right]$$

$$\text{DN \%} = \left[100 * \frac{(\% \text{ FDAI en alimento})}{(\% \text{ FDAI en heces})} * \frac{(\% \text{ nutriente en heces})}{(\% \text{ nutriente alimento})} \right]$$

En dónde; FDAI: Fibra detergente ácido indigestible; DN: Digestibilidad de nutrientes.

Flujo de nutrientes. Únicamente en las cinco vaquillas con fístula duodenal se evaluó el flujo de MS, MO y N, y porciones del N a duodeno. Diariamente (Día 1-17) se suministraron 3 g de Cr₂O₃ (99 % pureza) directamente en rumen a través de la fístula a las 0800 h, justo antes de servir el alimento. Se tomaron muestras de quimo duodenal (250 ml) en cada periodo experimental (Día 11: 0800, 1000, 1200, 1400 h; Día 12: 1600, 1800, 2000, 2200 h; Día 14: 0000, 0200, 0400 y 0600 h). Dichas muestras fueron mezcladas y congeladas a -20 °C para su posterior análisis.

Las muestras conjuntas de quimo duodenal fueron descongeladas y luego deshidratadas en estufa de aire forzado TELCHO® a una temperatura de 65 °C. Posteriormente fueron molidas (Criba de 1 mm; molino Wiley®, Thomas Scientific). Cada muestra fue incinerada utilizando mufla a una temperatura de 600 °C durante ocho horas, una vez incineradas fueron sometidas a un proceso de digestión (Williams *et al.*, 1962). Al final se determinó la concentración de Cr mediante espectrofotometría de absorción atómica con flama de óxido nitroso-acetileno utilizando una longitud de onda de 357.87 nm y una ranura de 2.7/0.8 nm (Galyean, 1980; AAnalyst 200®, Perkin Elmer Instruments). El N microbial se analizó mediante la cuantificación ácidos nucleicos (purinas) a través de



espectrofotometría UV a 260 nm (Zinn y Owens, 1986; Espectrofotómetro UV 1800®, Shimadzu). La concentración de NH₃ en duodeno fue determinada mediante destilación de vapor con la adición de MgO (AOAC, 1990). La concentración de N y MO fueron determinadas como se describió anteriormente.

Flujo de MS a duodeno. Se calculó mediante la siguiente fórmula:

$$\text{Flujo de MS a duodeno g/d} = \left[\frac{(\text{Cr consumido})}{(\text{Cr en duodeno})} \right]$$

Flujo de nutrientes (N y MO). Calculado mediante la fórmula:

$$\text{F. nutrientes g/d} = [\text{Flujo de MS a duodeno} * \text{Nutriente en duodeno}]$$

Flujo de N microbial. Se calculó mediante la siguiente fórmula:

$$\text{Flujo de N microbial g/d} = \left[100 * \frac{(\text{Purinas en duodeno} * 10)}{(\text{N en duodeno})} \right]$$

Flujo de NH₃. Se calculó mediante la siguiente fórmula:

$$\text{Flujo de NH}_3 \text{ g/d} = \left[100 * \frac{(\text{NH}_3 \text{ en duodeno})}{(\text{N en duodeno})} \right]$$

Flujo de NNA. N no NH₃ fue calculado mediante la fórmula:

$$\text{NAN g/d} = \text{N en duodeno} - \text{NH}_3 \text{ duodeno}$$

Eficiencia microbial: Fue calculada mediante la fórmula:

$$\text{Eficiencia microbial} = \left[\frac{\text{Gramos de N microbial}}{\text{Kilogramos de MO verdaderamente fermentada}} \right]$$

Eficiencia del N: Fue calculada mediante la fórmula:

$$\text{Eficiencia del N} = \left[\frac{\text{Flujo de NNA}}{\text{Consumo de N}} \right]$$

Digestibilidad ruminal. Fue calculado mediante la fórmula:



$$\% \text{ Deigestibilidad ruminal} = 100 * \left[\frac{\text{Consumo} - \text{Flujo a duodeno}}{\text{Consumo}} \right]$$

Análisis Estadístico

El efecto de nivel de AF sobre pH ruminal, consumo, digestibilidad aparente, consumo de nutrientes digestibles y flujo de nutrientes fue analizado mediante un diseño en cuadrado latino 5 x 5 con repetición de animal (excepto flujo de nutrientes) usando el procedimiento MIXED (SAS, 2004). Se consideraron como efectos fijos a tratamiento, animal y periodo, además se declaró como efecto aleatorio a la animal dentro de repetición.

El modelo utilizado para pH ruminal fue:

$$y_{ijklm} = \mu + \tau_i + \rho_j + \sigma_k + o_l + \Theta_{il} + a_m(\sigma_k) + e_{ijklm}$$

El modelo usado para consumo, digestibilidad y consumo de nutrientes digestibles fue:

$$y_{ijk} = \mu + \tau_i + \rho_j + \sigma_k + a_m(\sigma_k) + e_{ijk}$$

Finalmente, el modelo para flujo de nutrientes fue:

$$y_{ijk} = \mu + \tau_i + \rho_j + \sigma_k + e_{ijk}$$

Donde: y = valor observado de la variable respuesta; μ = media general; τ_i = es el efecto del tratamiento (nivel de la dosis de AF: 0, 3.5, 7, 10.5 y 14 mg/kg de PV); ρ_j = efecto del periodo; σ_k = efecto de repetición; o_l = efecto de la hora; Θ_{il} = interacción entre la dosis de AF y la hora; $a_m(\sigma_k)$ = animal dentro de repetición; e = Error aleatorio asociado con cada observación.

En todos los casos se reportaron las medias de mínimos cuadrados y el error estándar, cuando hubo diferencias significativas ($P < 0.05$), el efecto de



los niveles de AF fue probado usando contrastes lineales, cuadráticos o cúbicos. Se declaró tendencia cuando $P > 0.05$ y $P < 0.10$.



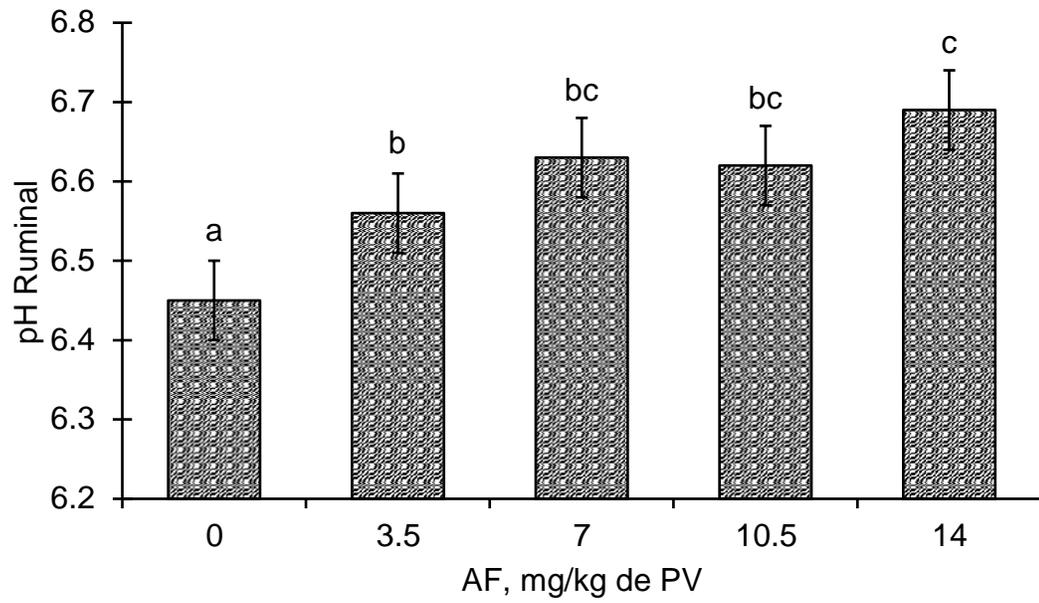
RESULTADOS Y DISCUSIÓN

pH Ruminal

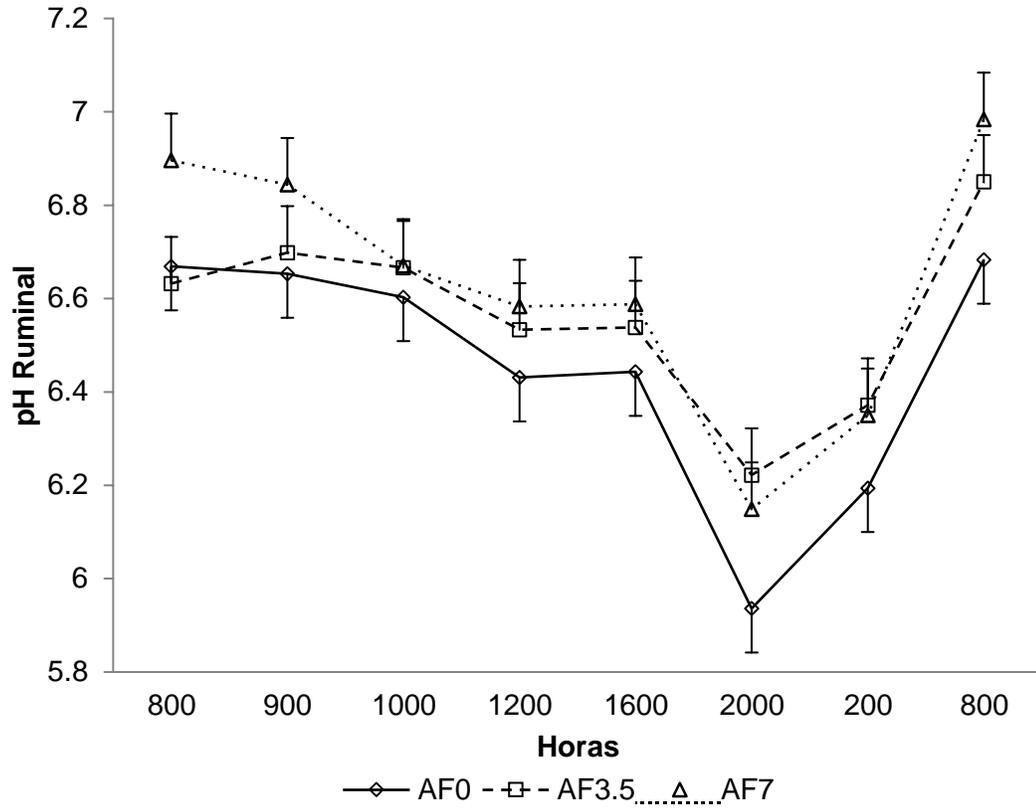
El pH ruminal fue diferente ($P < 0.01$) entre tratamientos (Gráfica 3), la suplementación con AF incrementó linealmente ($P < 0.01$) el pH ruminal. Resultados similares fueron reportados por Paula *et al.* (2016) quienes encontraron un incremento lineal del pH ruminal (6.78, 6.76, 6.88 y 6.96) cuando suplementaron compuestos fenólicos extraídos del propóleo (0, 16.95, 33.9 y 50.85 mg/d, respectivamente), en búfalos con una dieta 80 % de ensilaje de maíz y 20 % concentrado.

De-Nardi *et al.* (2014) reportaron una reducción del tiempo en pH ruminal < 5.6 (199 vs 18 min) cuando suplementaron una mezcla de polifenoles (100 g/d/animal; Anta®Phyt) en una dieta alta en almidón (30 %) en vaquillas Holstein-Friesian. Por su parte Ishida *et al.* (2014) indican que suplementar bagazo de uva (7.5 % de MS) rico en polifenoles en una dieta con 75 % concentrado en carneros (42.5 ± 6.8 kg) no modifica el pH ruminal respecto a la dieta control.

La interacción tratamiento \times hora no fue significativa ($P > 0.05$), sin embargo el hecho de que haya habido diferencias entre tratamientos durante las 24 h (Gráfica 4) y no solo en las horas posteriores a su suplementación (0800) es importante. El incremento del pH ruminal a lo largo de las 24 h es una consideración relevante debido a que cuatro horas posteriores a la suplementación, el AF regresa a niveles basales en rumen (Soberon *et al.* 2012a; Soberon *et al.* 2012b), sin embargo su baja recuperación en torrente sanguíneo (Soberon *et al.*, 2012a; Soberon *et al.*, 2012b), indica utilización y



Gráfica 3. Medias (\pm EE) del pH ruminal en vaquillas suplementadas con AF en dietas de finalización.



Gráfica 4. Medias (\pm EE) del pH ruminal en un periodo de 24 h en vaquillas suplementadas con AF en dietas de finalización.



biotransformación en el medio ambiente ruminal (Besle *et al.*, 1995).

El mecanismo por el cual el AF incrementó el pH ruminal es desconocido, siendo el rumen un medio altamente reducido. Srinivasan *et al.* (2007) mencionan que el AF por su estructura y capacidad antioxidante es capaz de ligar iones hidrógeno. Chesson *et al.* (1982) y Borges *et al.* (2013), reportaron que el AF tiene un efecto bacteriostático y bactericida selectivo sobre bacterias gram-negativas (contrario a Monensina), por lo cual los productos finales de la fermentación pudieron ser modificados (incluyendo el pH ruminal), sin embargo la dosis máxima de AF (AF14; 14 mg/kg de PV) utilizada en este experimento solo representa el 10 % para conseguir un efecto bacteriostático sobre Gram-negativa reportado por Chesson *et al.* (1982) y Borges *et al.* (2013).

Consumo de Materia Seca

El CMS en kilogramos y como porcentaje del PV fueron diferentes ($P < 0.05$) entre tratamientos (Cuadro 2). La suplementación con AF tuvo un efecto cuadrático ($P < 0.01$) sobre el CMS, siendo el tratamiento AF7 el mayor (12.41 ± 0.61 kg/d; 2.49 ± 0.09 % de PV/d). Resultados similares fueron reportados por Soberon *et al.* (2012a), en donde encontraron un efecto cuadrático sobre el CMS cuando alimentaron borregos con dietas altas en forrajes, siendo suplementados con 0, 3, 6 y 9 g/d de AF (1.25, 1.41, 1.41 y 1.29 kg/d, respectivamente). Macías-Cruz *et al.* (2014) no encontraron diferencias cuando alimentaron borregos con dietas altas en concentrado y fueron suplementados con AF en dosis de 0 y 0.3 g/d (1.12 vs 1.10 kg/d, respectivamente).

En este estudio los animales que no fueron suplementados con AF mostraron un CMS de 10.60 ± 0.61 kg/d (Cuadro 2), el cual es ligeramente



Cuadro 2. Efecto del AF sobre el consumo y digestibilidad en vaquillas alimentadas con una dieta de finalización

	AF, mg/kg de PV					EE	Valor- <i>P</i>	Contrastes ¹		
	0	3.5	7	10.5	14			<i>L</i>	<i>Q</i>	<i>C</i>
Consumo										
MS, kg	10.59	11.34	12.42	11.31	10.81	0.61	0.046	0.765	0.006	0.839
MS, % PV	2.13	2.27	2.49	2.27	2.18	0.09	0.035	0.698	0.006	0.828
Digestibilidad ²										
MS, %	78.7	79.1	78.4	75.0	77.1	0.9	0.013	0.115	0.881	0.022
FDN, %	42.7	44.8	43.2	33.7	38.1	2.3	0.003	0.003	0.667	0.009
PC, %	64.8	66.0	65.4	62.0	64.3	1.5	0.419	0.302	0.940	0.125

¹ L= Lineal; Q= Cuadrático; C= Cubico

³ Digestibilidad aparente total del tracto gastrointestinal, porcentaje del consumo



mayor al esperado (10.32 kg/d; NRC 2016) para este tipo de animales recibiendo este tipo de dieta. Suplementar 7 mg/kg de PV de AF en dietas de finalización en bovinos representa una alternativa para incrementar el CMS esperado, cuando los animales presentan una reducción de consumo debido a estrés fisiológico o ambiental (Reinhardt *et al.*, 2014). Además puede contribuir a disminuir el riesgo de acidosis ruminal y timpanismo al reducir la densidad energética por kilogramo de MS de las dietas (Vasconcelos y Galyean, 2007).

El efecto cuadrático que tiene el AF sobre el CMS puede ser explicado por el incremento lineal del pH ruminal promedio diario, ya que los extremos del pH ruminal (ácido y alcalino), resultan desfavorables para los microorganismos ruminales y por lo tanto la intensidad de la fermentación decrece (Schmidt y Zsédely, 2011). Paula *et al.* (2016) reportaron un incremento numérico en el CMS relacionado con un incremento lineal del pH ruminal promedio diario cuando suplementaron compuestos fenólicos en búfalos.

Un pH ruminal más equilibrado que fue obtenido en el tratamiento AF7 mejora las condiciones para la fermentación microbiana, con lo que se incrementa la degradabilidad ruminal y por lo tanto el flujo de nutrientes a duodeno, resultando en un incremento del consumo de alimento (Oldick *et al.*, 1999).

Un incremento del CMS en dietas de finalización incrementa la GDP, sin embargo, el incremento de la densidad energética de estas dietas reducen el CMS (Meissner *et al.*, 1995; NRC, 2016). Rivera-Méndez *et al.* (2017) concluyeron que la suplementación con taninos (75 mg/kg de PV) incrementó en 4 % el CMS y por lo tanto mejoró en 6.8 % la GDP de bovinos en fase



finalización. En nuestro experimento AF7 incrementó ($P < 0.05$) 17.3 % el CMS, por lo cual se supone que el uso de este nivel traerá como resultado una mejora de los parámetros productivos.

Digestibilidad Aparente

Las DMS y DFDN fueron diferentes ($P < 0.05$) entre tratamientos (Cuadro 2). La suplementación con AF tuvo un efecto cúbico ($P < 0.05$) sobre el DMS y DFDN. El tratamiento AF10.5 disminuyó ($P < 0.05$) la DMS (4.7 %) y la DFDN (21.0 %) respecto a la dieta control. La DPC no fue diferente ($P > 0.05$) entre tratamientos (Cuadro 2). Soberon *et al.* (2012a) reportaron que el AF incrementó la digestión ruminal *in vitro* de la FDN. Paula *et al.* (2016) reportaron que compuestos fenólicos suplementados en búfalos no modifican la digestibilidad de los nutrientes.

El CMSD, CFDND y CPCD fueron diferentes ($P < 0.05$) entre tratamientos (Cuadro 3), la suplementación con AF tuvo un efecto cuadrático ($P < 0.05$) sobre el CMS, CFDN y CPC digestibles. Al relacionar estos resultados con el incremento lineal ($P < 0.05$) del pH ruminal, se observa que el tratamiento AF7 fue el zenit en el consumo de nutrientes digestibles y cualquier movimiento hacia la acidez o alcalinidad ruminal resultó en la reducción del consumo de nutrientes digestibles.

Resultados similares fueron reportados por Calsamiglia *et al.* (2008), quienes indican que el pH ruminal fue la mejor determinante en los cambios en fermentación ruminal, además reportaron un efecto cuadrático sobre la degradabilidad ruminal de MO y FDN, en donde un pH ruminal de 6.6 fue el



Cuadro 3. Efecto del AF sobre el consumo de nutrientes digestibles en vaquillas alimentadas con una dieta de finalización

	AF, mg/kg de PV					EE	Valor- <i>P</i>	Contrastes ¹		
	0	3.5	7	10.5	14			<i>L</i>	<i>Q</i>	<i>C</i>
Consumo										
MS digestible, kg	8.32	8.97	9.74	8.50	8.32	0.47	0.026	0.666	0.007	0.390
FDN digestible, kg	0.98	1.10	1.18	0.83	0.90	0.07	0.001	0.024	0.022	0.021
PC digestible, kg	0.51	0.55	0.60	0.52	0.51	0.03	0.043	0.817	0.012	0.392

¹ L= Lineal; Q= Cuadrático; C= Cubico



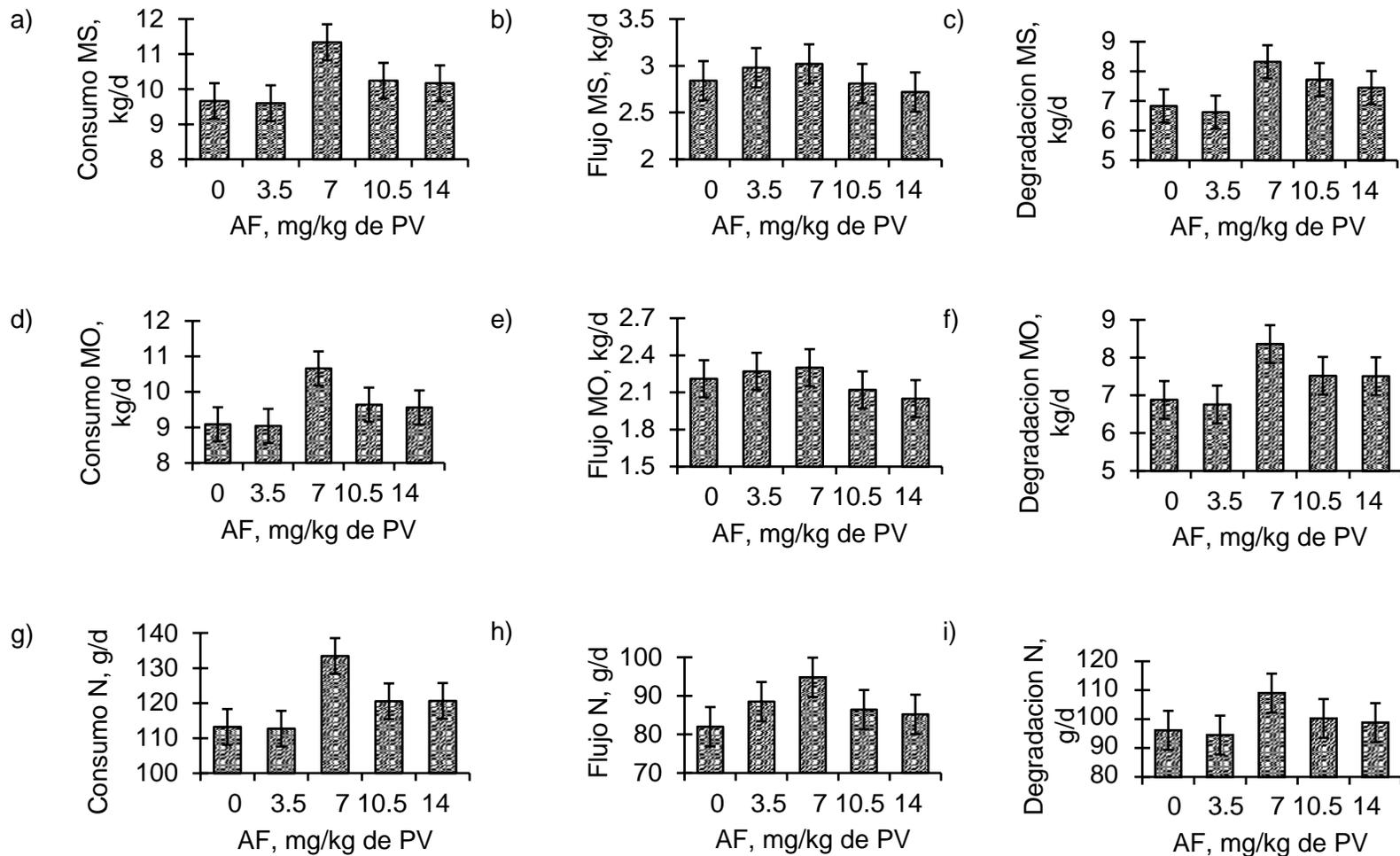
zenit. Mould y Ørskov (1983) y Mould *et al.* (1983) concluyeron que el pH ruminal fue la mejor determinante en la reducción de la degradación de la fibra y MO, con un pH límite alrededor de 6.0, siendo esto consistente con los resultados encontrados en el presente experimento.

Flujo de Nutrientes a Duodeno

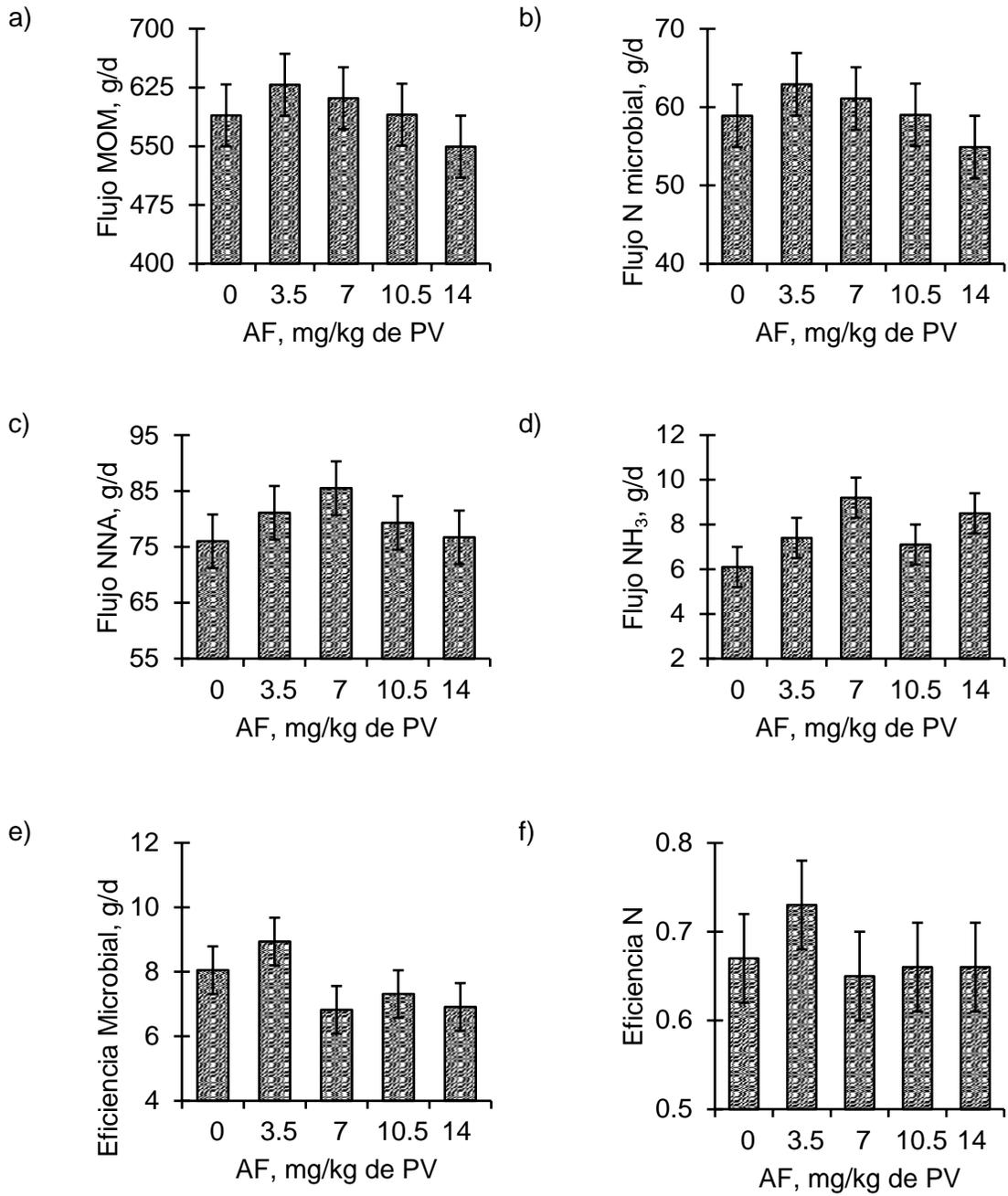
Las medias para flujo de nutrientes a duodeno (MS, MO y PC) no fueron diferentes ($P > 0.05$) entre tratamientos (Gráfica 5; b; e; h, respectivamente), sin embargo, el flujo de N a duodeno (Gráfica 5; h) tuvo una tendencia cuadrática ($P = 0.07$) respecto a las dosis de AF suplementadas. Las medias del CMS, consumo de MO y el consumo de N (Gráfica 5; a; d; g, respectivamente), y de digestibilidad ruminal de MS, MO y N (Gráfica 5; c; f; i, respectivamente), no fueron diferentes ($P > 0.05$) entre tratamientos.

Las medias de la partición de N no fueron diferentes ($P > 0.05$) entre tratamientos, sin embargo el flujo de NNA (Gráfica 6; c) tuvo una tendencia cuadrática ($P = 0.07$) respecto a las dosis de AF suplementadas, donde AF7 represento el zenit, lo cual resulta deseable debido a que es la porción de N utilizada por el animal. Al mostrar AF7 un incremento numérico en el valor del flujo de $N-NH_3$ (Gráfica 6; d), éste tendió a reducir ($P = 0.07$) la eficiencia microbiana. Koenig y Beauchemin (2013) reportaron que un incremento en el flujo de NH_3 a duodeno tiende a reducir la eficiencia microbiana, lo cual es consistente con los resultados en el presente experimento.

El AF3.5 fue el tratamiento donde la eficiencia microbiana tendió ($P = 0.07$) a ser mayor (Gráfica 6; e). Lo anterior se debe a que AF3.5 incrementó numéricamente ($P = 0.34$) el flujo de MO microbiana y N microbiana (Gráfica 6; a; b),



Gráfica 5. Medias (\pm EE) del consumo, digestibilidad ruminal y flujo a duodeno en vaquillas (n = 5) suplementadas con AF en dietas de finalización.



Gráfica 6. Medias (\pm EE) del flujo de N a duodeno en vaquillas (n = 5) suplementadas con AF en dietas de finalización.



además, no incrementó el flujo de NH_3 (Gráfica 6; d). La eficiencia del N no fue diferente ($P > 0.05$) entre tratamientos (Gráfica 6; f), sin embargo, el patrón de datos fue similar a la eficiencia microbiana (Gráfica 6; e), siendo AF3.5 el tratamiento numéricamente más alto.

Calsamiglia *et al.* (2008) reportaron que el pH ruminal tiene un efecto cuadrático sobre el flujo de N microbiana siendo 6.6 el zenit. Por su parte, Paula *et al.* (2015) reportaron una tendencia lineal a incrementar la síntesis de proteína microbiana cuando suplementaron compuestos fenólicos en búfalos. Estos resultados son diferentes a los encontrados en el presente experimento, en donde el flujo de N microbiana no fue diferente ($P > 0.05$) entre tratamientos, sin embargo, el tratamiento AF3.5 incrementó numéricamente un 6.8 % el flujo de N microbiana respecto al grupo control y presentó un pH ruminal de 6.56.

Herrera-Herrera *et al.* 2011 y González-Ríos *et al.* 2013 reportaron una respuesta productiva y características de canal similares al utilizar AF y A β A en fase de finalización. Debido a la similitud en la estructura química del AF y los A β A estos investigadores sugieren un efecto similar. Resultados de este estudio indican que el AF a nivel tracto digestivo no se comporta de una manera similar a A β A los cuales reducen el CMS, dada la reducción de DMS como lo reporta Macías-Cruz *et al.* (2013). Aunado a ello reducen el N y AA disponibles en líquido ruminal provocando una disminución de proteólisis en rumen (Walker y Drouillard *et al.*, 2010), y una reducción de la motilidad y secreción del tracto gastrointestinal (McIntyre y Thompson, 1992).

De acuerdo a los resultados del presente experimento se asume que la respuesta productiva favorable observada por González-Ríos *et al.* (2013) se



atribuye a un pH más equilibrado, un incremento en el CMS y consumos de nutrientes digestibles. En este experimento, a pesar de no ser diferente estadísticamente existe evidencia del incremento en la eficiencia microbiana, lo cual puede tener importantes implicaciones debido al perfil de aminoácidos limitantes y a la alta disponibilidad que estos presentan (Firkins, 1996), además de los efectos favorables que tiene el AF en los tejidos dada sus características antioxidantes (Mancuso y Santangelo, 2014).

No se descarta que el AF tenga un efecto similar a AβA a nivel tejido muscular o adiposo dada la rápida absorción que se presenta en rumen; además de su rápida aparición en sistema circulatorio y su baja recuperación en orina y heces (Soberon *et al.*, 2011a; Soberon *et al.*, 2011b).

Para incrementar la productividad en la etapa de finalización del corral de engorda, los animales reciben dietas altas (>70 %) en concentrado (Vasconcelos y Galyean, 2007), esto incrementa la producción ruminal de AGVs y lactato, además altera el comportamiento, disminuyendo el tiempo de rumia y secreción de saliva, disminuyendo el pH ruminal a 5.5 e incrementando el riesgo de acidosis ruminal (Schwaiger *et al.*, 2013).

Los efectos negativos de la acidosis ruminal incluyen erosión del epitelio ruminal con la consecuente disminución en la absorción de AGVs (Nagaraja y Titgemeyer, 2007; Wilson *et al.*, 2012), así como una disminución del CMS, reducción de la GDP y conversión alimenticia (Castillo-Lopez *et al.*, 2014). Los niveles observados en este estudio en promedio diario no decrecieron el pH ruminal a 6.0. Esta es una consideración importante para incluir AF a la dieta de finalización de corral de engorda.



CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

La suplementación de AF a dosis de entre 3.5 - 14 mg/kg de PV en dietas de finalización en bovinos incrementaron de manera lineal el pH ruminal, tuvo un efecto cuadrático sobre el CMS y CMS digestible y un efecto cubico sobre la digestibilidad, además se observó una tendencia cuadrática en la mejora de flujo de nutrientes a duodeno.

Una dosis de entre 3.5 – 7 mg/kg de PV incrementa el pH ruminal, CMS y CMS digestible sin afectar la digestibilidad aparente, por lo cual se recomienda para ser usado en alimentación de ganado de carne cuando se proporcionan dietas de finalización en corral de engorda.

Investigaciones futuras son necesarias para entender el efecto directo que tiene el AF sobre microorganismos ruminales, así como su impacto en los productos terminales de la fermentación.



LITERATURA CITADA

- Akin, D. E. 1982. Forage cell wall degradation and p-coumaric ferulic and sinapic acids. *Agron. J.* 74:424-428.
- Akin, D. E. y L. L. Rigsby. 1987. Mixed fungal populations and lignocellulosic tissue degradation in the bovine rumen *Appl. Environ. Microbiol.* 53: 1987-1995.
- AOAC. 1990. *Official Methods of Analysis*. 15th ed. Assoc. Offic. Anal. Chem., Arlington, VA. U.S.A.
- AOAC. 2003. *Official methods of analysis*. 17th ed. J. Assoc. Off. Anal. Chem., Arlington VA. U.S.A.
- Arp, T. S., S. T. Howard, D. R. Woerner, J. A. Scanga, D. R. McKenna, W. H. Kolath, P. L. Chapman, J. D. Tatum y K. E. Belk. 2013. Effects of ractopamine hydrochloride and zilpaterol hydrochloride supplementation on longissimus muscle shear force and sensory attributes of beef steers. *J. Anim. Sci.* 91:5989–5997.
- Arp, T. S., S. T. Howard, D. R. Woerner, J. A. Scanga, D. R. McKenna, W. H. Kolath, P. L. Chapman, J. D. Tatum y K. E. Belk. 2014. Effects of dietary ractopamine hydrochloride and zilpaterol hydrochloride supplementation on performance, carcass traits, and carcass cutability in beef steers. *J. Anim. Sci.* 92:836–843.
- Beauchemin, K. A., L. M. Rode y V. J. H. Sewalt. 1995. Fibrolytic enzymes increase fibre digestibility and growth rate of steers fed dry forages. *Can. J. Anim. Sci.* 75:641-644.
- Besle, J. M., J. P. Jouany y A. Cornu. 1995. Transformations of structural phenylpropanoids during cell wall digestion. *FEMS Microbiol. Rev.* 16: 33-52.
- Beermann, D. H. 2002. Beta-Adrenergic receptor agonist modulation of skeletal muscle growth. *J. Anim. Sci.* 80:18-23.
- Beermann, D. H. 2009. ASAS Centennial Paper: A century of pioneers and progress in meat science in the United States leads to new frontiers. *J. Anim. Sci.* 87:1192-1198.
- Borneman, W. S., D. E. Akin y W. P. Van Eseltine,. 1986. Effect of phenolic monomers on ruminal bacteria. *Appl. Environ. Microbiol.* 52: 1331–1339.
- Borges, A., C. Ferreira, M. J. Saavedra y M. Simões. 2013. Antibacterial activity and mode of action of ferulic and gallic acids against pathogenic bacteria. *Microb. Drug. Resist.* 19:256-65.
- Calsamiglia, S., P. W. Cardozo, A. Ferret y A. Bach. 2008. Changes in rumen microbial fermentation are due to a combined effect of type of diet and pH. *J. Anim. Sci.* 86:702-711.
- Castillo-Lopez, E., B. I. Wiese, S. Hendrick, J. J. McKinnon, T. A. McAllister, K. A. Beauchemin y G. B. Penner. 2014. Incidence, prevalence, severity, and risk factors for ruminal acidosis in feedlot steers during backgrounding, diet transition, and finishing. *J. Anim. Sci.* 92:3053-3063.
- Centner T. J., J. C. Alvey y A. M. Stelzleni. 2014. Beta agonists in livestock feed: Status, health concerns, and international trade. *J. Anim. Sci.* 92:4234-4240.



- Chesson, A., Stewart, C.S. and Wallace, R.J., 1982. Influence of plant phenolic acids on growth and cellulolytic activity of rumen bacteria. *Appl. Environ. Microbiol.* 44: 597-603.
- De-Nardi, R., G. Marchesini, J. C. Plaizier, S. Li, E. Khafipour, R. Ricci, I. Andrighetto y S. Segato. 2014. Use of dicarboxylic acids and polyphenols to attenuate reticular pH drop and acute phase response in dairy heifers fed a high grain diet. *BMC Vet Res.* 10:277.
- Dueñas, M., I. Muñoz-González, C. Cueva, A. Jiménez-Girón, F. Sánchez-Patán, C. Santos-Buelga, M. V. Moreno-Arribas y B. Bartolomé. 2015. Review Article: A Survey of Modulation of Gut Microbiota by Dietary Polyphenols. *BioMed Research International.* Article ID 850902.
- FAO/WHO. 1998. Evaluation of certain veterinary drug residues in food: Technical report series 876. En: http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/42103/1/WHO_TRS_876.pdf. Consultado 30 Junio 2016
- FDA. 2003. Ractopamine Hydrochloride (NADA 141- 221): Freedom of information summary original new animal drug application. En <http://www.fda.gov/downloads/AnimalVeterinary/Products/ApprovedAnimalDrugProducts/FOIADrugSummaries/ucm118030.pdf>. Consultado 30 Junio 2016
- FDA. 2006. Zilpaterol Hydrochloride (NADA 141-258): Freedom of information summary original new animal drug application. En: <http://www.fda.gov/downloads/AnimalVeterinary/Products/ApprovedAnimalDrugProducts/FOIADrugSummaries/ucm051412.pdf> Consultado 30 Junio 2016.
- Firkins, J. L. 1996. Maximizing microbial protein synthesis in the rumen. *J. Nutr.* 126:1347-1354.
- FND, Financiera Nacional de Desarrollo Agropecuario, Rural, Forestal y Pesquero. "Panorama de la carne y leche de Bovino". 2014. Secretaria de Hacienda y Crédito Público. Dirección General Adjunta de Planeación Estratégica, Análisis Sectorial y Tecnologías de la Información. En: [http://www.financierarural.gob.mx/informacionsectorrural/Panoramas/Panorama%20Bovino%20\(may%202014\).pdf](http://www.financierarural.gob.mx/informacionsectorrural/Panoramas/Panorama%20Bovino%20(may%202014).pdf). Consultado 23 Junio 2016.
- Galyean, M. L. 1980. Techniques and procedures in animal nutrition research. New Mexico State University. U.S.A.
- Garmyn, A. J., J. C. Brooks, J. M. Hodgen, W. T. Nichols, J. P. Hutcheson, R. J. Rathmann y M. F. Miller. 2014. Comparative effects of supplementing beef steers with zilpaterol hydrochloride, ractopamine hydrochloride, or no beta agonist on strip loin composition, raw and cooked color properties, shear force, and consumer assessment of steaks aged for fourteen or twenty-one days postmortem. *J. Anim. Sci.* 92:3670-3684.
- Goldstone, D. C., S. G. Villas-Boas, M. Till, W. J. Kelly, G. T. Attwood y V. L. Arcus. 2010. Structural and functional characterization of a promiscuous feruloyl esterase (Est1E) from the rumen bacterium *Butyrivibrio proteoclasticus*. *Proteins: Structure, Function, and Bioinformatics.* 78:1457-1469



- González-Ríos, H., D. A. Gil-Lozano y A. Berrondo-Mir. 2013. Ferulic acid as feed supplement in beef cattle to promote animal growth and improve the meat quality of the carcass and the meat. En <http://www.faqs.org/patents/app/20130041036#ixzz2ix0ciGlp>. Consultado 14 Marzo 2016.
- González-Plascencia, C. 2015. Cinética del ácido ferúlico y ferulato de etilo en bovinos productores de carne. Tesis de Maestría. Facultad de Zootecnia y Ecología. Universidad Autónoma de Chihuahua. Chihuahua, Chih. México
- Gorewit, R. C. 1983. Pituitary and thyroid hormone responses of heifers after ferulic acid administration. *J. Dairy Sci.* 66:624-629.
- Herrera-Herrera, R., M. L. Alejo-Castillo y A. J. Asaff-Torres. 2011. Methods to accelerate muscle development, decrease fat deposits, and enhance feeding efficiency in pigs. En <http://www.faqs.org/patents/app/20110046224#ixzz3Vej9qjFG>. Consultado 19 Marzo 2016.
- INEGI, Instituto Nacional de Estadística y Geografía. 2016. En <http://www3.inegi.org.mx/sistemas/temas/default.aspx?s=est&c=17484>. Consultado 4 Junio 2016.
- Ishida, K., Y. Kishi, K. Oishi, H. Hirooka y H. Kumagai. 2015. Effects of feeding polyphenol-rich winery wastes on digestibility, nitrogen utilization, ruminal fermentation, antioxidant status and oxidative stress in wethers. *Anim. Sci. J.* 86:260-269.
- Jayarman, S., R. Mukkalil y H. Chirakkal. 2015. Use of ferulic acid esterase to improve performance in monogastric animals. En http://www.faqs.org/patents/imgfull/20150118361_14. Consultado 4 Junio 2016.
- Jung, H. G. y M. S. Allen. 1995. Characteristics of plant cell walls affecting intake and digestibility of forages by ruminants. *J. Anim. Sci.* 73:2774-2790.
- Kroon, A. P. y G. Williamson. 1999. Hydroxycinnamates in plants and food: Current and future perspectives. *J. Sci. Food Agric.* 79:355-361.
- Koenig, K. M. y K. A. Beauchemin. 2013. Nitrogen metabolism and route of excretion in beef feedlot cattle fed barley-based finishing diets varying in protein concentration and rumen degradability. *J. Anim. Sci.* 91:2310-2320.
- Kumar, N. y V. Pruthi. 2014. Potential applications of ferulic acid from natural sources. *Biotechnol.* 4:86-93.
- Lean I. J., J. M. Thompson y F. R. Dunshea. 2014. A Meta-Analysis of zilpaterol and ractopamine effects on feedlot performance, carcass traits and shear strength of meat in cattle. *PLoS ONE* 9: e115904.
- Li, Y. J., L. Y. Li, J. L. Li, L. Zhang, F. Gao y G. H. Zhou. 2015. Effects of dietary supplementation with ferulic acid or vitamin e individually or in combination on meat quality and antioxidant capacity of finishing pigs. *Asian Australas. J. Anim. Sci.* 28:374-381.
- Lyte, M. y S. Ernst. 1992. Catecholamine induced growth of gram negative bacteria. *Life Sci.* 503:203-212.
- Macías-Cruz, U., F. D. Álvarez-Valenzuela, S. A. Soto-Navarro, E. Águila-Tepato y L. Avendaño-Reyes. 2013. Effect of zilpaterol hydrochloride on



- feedlot performance, nutrient intake, and digestibility in hair-breed sheep. *J. Anim. Sci.* 91:1844-1849
- Macías-Cruz, U., S. Perord, R. Vicente, F. D. Alvarez, N. G. Torrentera-Olivera, H. González-Ríos, S. A. Soto-Navarro, R. Rojo, C. A. Meza-Herrera y L. Avendaño-Reyes. 2014. Effects of free ferulic acid on productive performance, blood metabolites and carcass characteristics of feedlot finishing lambs. *J. Anim. Sci.* 92:5762-5768.
- Mancuso, C. y R. Santangelo. 2014. Ferulic acid: Pharmacological and toxicological aspects. *Food Chem. Toxicol.* 65:185-195.
- Martin, J. N., A. J. Garmyn, M. F. Miller, J. M. Hodgen, K. D. Pfeiffer, C. L. Thomas, R. J. Rathmann, D. A. Yates, J. P. Hutcheson y J. C. Brooks. 2014. Comparative effects of beta-adrenergic agonist supplementation on the yield and quality attributes of selected subprimals from calf-fed Holstein steers. *J. Anim. Sci.* 92:4204-4216.
- McIntyre, A. S. y D. G. Thompson. 1992. Review article: Adrenergic control of motor and secretory function in the gastrointestinal tract. *Aliment. Pharmacol. Ther.* 6:125-142.
- Meissner, H. H., M Smuts y R. J. Coertze. 1995. Characteristics and efficiency of fast-growing feedlot steers fed different dietary energy concentrations. *J Anim Sci.* 73:931-936.
- Mersmann, H. J. 1998. Overview of the effects of beta-adrenergic receptor agonists on animal growth including mechanisms of action. *J. Anim. Sci.* 76:160-172.
- Mersmann, H. J. 2002. Overview of the effects of β -adrenergic receptor modulation of adipocyte metabolism and growth. *J. Anim. Sci.* 80:24-29.
- Mould, F. L. y E. R. Ørskov. 1983. Manipulation of rumen fluid pH and its influence on cellulolysis in sacco, dry matter degradation and the ruminal microflora of sheep offered either hay or concentrate. *Anim. Feed Sci. Technol.* 10:1-14.
- Mould, F. L., E. R. Ørskov y S. O. Mann. 1983. Associative effects of mixed feeds. I. Effect of type and level of supplementation and the influence of the rumen fluid pH on cellulolysis in vivo and dry matter digestion on various roughages. *Anim. Feed Sci. Technol.* 10:15-30.
- Nagaraja, T. G. y E. C. Titgemeyer. 2007. Ruminal acidosis in beef cattle: The current microbiological and nutritional outlook. *J. Dairy Sci.* 90:17-38.
- Navarro-Ocaña, A., K. E. Gonzalez-Vazquez, D. Arrieta-Báez y L. Hernandez-Vazquez. 2009. Estudio de la Dimerización y Transesterificación del Ferulato de Etilo, XIII Congreso Nacional De Biotecnología Y Bioingeniería. En http://www.smbb.com.mx/congresos%20smbb/acapulco09/TRABAJOS/AR_EA_I/CI-07.pdf. Consultado 12 Marzo 2016.
- NOM-051-ZOO-1995. Norma oficial para trato humanitario en la movilización de animales. Publicada en el Diario Oficial de la Federación el 23 de Marzo de 1998.
- NOM-061-ZOO-1999. Especificaciones zoonosanitarias de los productos alimenticios para consumo animal. Publicada en el Diario Oficial de la Federación el 11 de Octubre del 2000.



- NRC. 2016. Nutrient requirements of beef cattle. 8th revised ed. Natl. Acad. Press, Washington, DC.
- Oldick, B. S., J. L. Firkins y N. R. Pierre. 1999. Estimation of microbial nitrogen flow to the duodenum of cattle based on dry matter intake and diet composition. *J. Dairy Sci.* 82:1497-1511
- Ou, S. y K. Kwok. 2004. Ferulic acid: pharmaceutical functions, preparation and applications in foods. *J. Sci. Food Agric.* 84:1261-1269.
- Paula, E. M., R. B. Samensarib, E. Machadob, L. M. Pereirab, F. J. Maiac, E. H. Yoshimurab, R. Franzolind, A. P. Faciolaa y L. M. Zeoulab. 2016. Effects of phenolic compounds on ruminal protozoa population, ruminal fermentation, and digestion in water buffaloes. *Livestock Science.* 185:136-141.
- Platt, J., M. Anderson y B. J. Johnson 2013. The effects of ferulic acid on myogenic regulators in bovine satellite cells. Undergraduate Research Conference. Texas Tech University. Lubbock, TX. E.U.A.
- Penning, P. D. y R. H. Johnson. 1983. The use of internal markers to estimate herbage intake and digestibility; Indigestible acid detergent fiber. *J. Agric. Sci.* 100:133-138.
- Phelps, K. J., J. S. Drouillard, J. S. Jennings, B. E. Deppenbusch, C. L. Van Bibber-Krueger, K. A. Miller, M. A. Vaughn, D. D. Burnett y J. M. Gonzalez. 2015. Effects of the Programmed Nutrition Beef Program on feedlot performance and carcass characteristics. *J. Anim. Sci.* 93:1298-1308
- Pond, K. R., J. C. Burns y D. S. Fisher. 1987. External markers – use and methodology in grazing studies. *Proc. Grazing Livestock Nutr. Conf.* North Carolina State University y USDA. ARS. U.S.A.
- Reinhardt, C.D., C. I. Vahl, B. E. Deppenbusch, J. P. Hutcheson y D. U. Thomson. 2014. Feeding zilpaterol hydrochloride is associated with decreased dry matter intake shortly after initiation of feeding dependent on season and previous intake. *J. Anim. Sci.* 92:4751-4760.
- Rivera-Méndez, C., A. Plascencia, N. Torrentera y R. A. Zinn. 2017. Effect of level and source of supplemental tannin on growth performance of steers during the late finishing phase, *Journal of Applied Animal Research*, 45:1, 199-203
- SAS Institute Inc. 2004 SAS/STAT® 9.1.2. User's Guide. Cary, NC: SAS Institute Inc.
- Schmidt, J. y E. Zsédely. 2011. Nutrition of ruminants. University of West-Hungary Beágyazás. Chapter 2. Feed intake of ruminants
- Schneider, B. H. y W. P. Flatt. 1975. The evaluation of feeding through digestibility experiments. Univ. of Georgia. Press, Athens. GA. USA.
- Scramlin, S. M., W. J. Platter, R. A. Gomez, W. T. Choat, F. K. McKeith y J. Killefer. 2010. Comparative effects of ractopamine hydrochloride and zilpaterol hydrochloride on growth performance, carcass traits, and longissimus tenderness of finishing steers *J. Anim. Sci.* 88:1823-1829
- Schwaiger, T., K. A. Beauchemin y G. B. Penner. 2013. The duration of time that beef cattle are fed a high-grain diet affects the recovery from a bout of ruminal acidosis: Short-chain fatty acid and lactate absorption, saliva production, and blood metabolites. *J. Anim. Sci.* 91:5743-5753.



- Shappell, N. W., V. J. Feil, D. J. Smith, G. L. Larsen y D. C. McFarland. 2000. Response of C2C12 mouse and turkey skeletal muscle cells to the β -adrenergic agonist ractopamine. *J. Anim. Sci.* 78:699-708.
- SIAP, Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera. 2016. En <http://www.siap.gob.mx/resumen-nacional-pecuario>. Consultado 4 Junio 2016.
- Sillence, M. N. y M. L. Matthews. 1994. Classical and atypical binding sites for b-adrenoceptor ligands and activation of adenylyl cyclase in bovine skeletal muscle and adipose tissue membranes. *Br. J. Pharmacol.* 111:866-872.
- Smith D. J. 1998. The pharmacokinetics, metabolism, and tissue residues of b-adrenergic agonists in livestock. *J. Anim. Sci.* 76:173-194.
- Soberon M. A., D. J. R. Cherney y J. H. Cherney. 2012a. Free ferulic acid uptake in ram lambs. *J. Anim. Sci.* 90:1885-1891.
- Soberon, M. A., J. H. Cherney, R. H. Lui, D. A. Ross y J. R. Cherney. 2012b. Free ferulic acid uptake in lactating cow. *J. Dairy Sci.* 95:6563-6570.
- Srinivasan, M., A. R. Sudheer y V. P. Menon. 2007. Ferulic acid: therapeutic potential through its antioxidant property. *J. Clin. Biochem. Nutr.* 40:92-100.
- Tada, Y., K. Tayama y N. Aoki. 1999. Acute oral toxicity of ferulic acid, natural food additive, in rats. *Ann Rep Tokyo Metr Lab PH.* 50:311-313.
- Theodorou, M. K., D. J. Gascoyne, D. E. Akin y R. D. Hartley. 1986. Effect of phenolic acids and phenolics from cell walls of maize stem and barley straw on rumen - like fermentation in consecutive batch culture. *Appl. Environ. Microbiol.*, 53: 1046-1050.
- Ushida, K., H. Watase y Y. Kojima. 1990. Effect of plant phenolic acids on cellulolytic activity of mixed rumen populations. *Asian-Australas J Anim Sci.* 3: 27-31.
- Van-Soest, P. J., J. B. Robertson y B. A. Lewis. 1991. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. *J. Dairy Sci.* 74:3583-3597.
- Vasconcelos, J. T. y M. L. Galyean. 2007. Nutritional recommendations of feedlot consulting nutritionists: The 2007 Texas Tech University survey. *J. Anim. Sci.* 85:2772-2781.
- Walker, D. K. y J. S. Drouillard. 2010. Effects of ractopamine hydrochloride are not confined to tissue: Evidence for direct effects of ractopamine hydrochloride supplementation on fermentation by ruminal microorganisms. *J. Anim. Sci.* 88:697-706.
- Williams, C. H., D. J. David y O. Lismaa. 1962. The determination of chromic oxide in feces samples by atomic absorption spectrophotometry. *J. Agri. Sci.* 59:381-385.
- Wilson, D. J., T. Mutsvangwa y G. B. Penner. 2012. Supplemental butyrate does not enhance the absorptive or barrier functions of the isolated ovine ruminal epithelia. *J. Anim. Sci.* 90:3153-3161.
- Yu, P., D. D. Maenz, J. J. McKinnon, V. J. Racz y D. A. Christensen. 2002. Release of ferulic acid from oat hulls by *Aspergillus ferulic acid esterase* and *Trichoderma xylanase*. *J. Agric. Food Chem.* 50:1625-1630.



Zinn, R. A. y F. N. Owens. 1986. A rapid procedure for purine measurement and its use for estimating net ruminal protein synthesis. *Can. J. Anim. Sci.* 66:157-166.

