



DIGESTIÓN RUMINAL E INTESTINAL DEL MAÍZ (*Zea mays*) Y SORGO (*Sorghum bicolor* L. MOENCH) UTILIZANDO DIFERENTES TÉCNICAS DE DIGESTIBILIDAD (*IN VIVO*, *IN VITRO* E *IN SACCO*)¹

[RUMINAL AND INTESTINAL DIGESTION OF MAIZE (*Zea mays*) AND SORGHUM (*Sorghum bicolor* L. MOENCH) USING DIFFERENT DIGESTIBILITY TECHNIQUES (*IN VIVO*, *IN VITRO* AND *IN SACCO*)]

U.A. González García¹, L. Corona Gochi², J.G. Estrada Flores³,
D.K. Abarca Amesquita⁴ and M. González Ronquillo^{1*}

¹Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Autónoma del Estado de México. Literario 100 Ote. Toluca. Mexico. 50000. E-mail: mrg@uaemex.mx

²Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Nacional Autónoma de México. México.

³Instituto de Ciencias Agropecuarias y Rurales, Universidad Autónoma del Estado de México. Instituto Literario 100 Ote. Toluca. Mexico. 50000.

⁴Unidad Académica de Medicina Veterinaria y Zootecnia 3, campus Costa Grande, Tecpan de Galeana, Gro.

*Corresponding author

RESUMEN

El conocimiento de la digestibilidad de los alimentos es básico para establecer su valor nutritivo y biodisponibilidad de los nutrientes para ello se han utilizado numerosos análisis de laboratorio para estimar la digestión ruminal e intestinal del alimento como son *in vitro* (Producción de gas y Daisy) e *in sacco*, para ser comparadas con el método *in vivo*. El sorgo presenta el mayor (P<0.01) contenido de almidón, mientras que la FND fue mayor (P<0.01) para el maíz, la MSd fue similar (P=0.93) para ambos cereales, la digestión de la PC fue mayor (P<0.01) para el sorgo con respecto al maíz, mientras que para la proteína no degradable en rumen (PNDR) y la proteína degradable en intestino (PDI) no se encontraron diferencias (P>0.05) entre cereales. Con lo que respecta a los métodos de digestibilidad, la MSd fue menor (P<0.01) para el *in vivo* con respecto al resto de los métodos, la digestión de la PC tanto en rumen como en intestino fue mayor (P>0.01) para los métodos *in sacco* e *in vitro* (Daisy). La producción de AGV'S fue similar para ambos cereales. Las técnicas *in situ* e *in vitro* (DaisyII®) permiten determinar la digestibilidad de forma rápida y sencilla comparado con los métodos convencionales. El molido del sorgo mejora su valor alimenticio aumentando su digestibilidad, lo que representa una alternativa ante el maíz para la alimentación de terneros en engorda.

Palabras clave: *in vivo*; *in sacco*, proteína degradable en rumen; proteína digestible en intestino; Producción de gas *in vitro*.

SUMMARY

The knowledge of the digestibility of the food is basic to establish its nutritive value and bioavailability of the nutrients. Numerous laboratory tests have been used to estimate the ruminal and intestinal digestion of the food such as *in vitro* (Gas and Daisy production) and *in sacco*, to be compared with the *in vivo* method. Sorghum presented the highest (P <0.01) starch content, while the NDF was higher (P <0.01) for maize, the DDM was similar (P = 0.93) for both cereals, CP digestion was higher (P <0.01) for maize, whereas for rumen non-degradable protein and intestinal degradable protein, no differences (P > 0.05) were found between grains. With regard to the digestibility methods, the DMD was lower (P <0.01) for *in vivo* than the rest of the methods, the digestion of the CP in both rumen and intestine was higher (P > 0.01) for the *in sacco* and *in vitro* methods (Daisy). The production of VFA's was similar for both cereals. *In situ* and *in vitro* techniques (DaisyII®) allow the determination of digestibility quick and easy compared to conventional methods. Sorghum grinding improves its nutritional value by increasing its digestibility, which represents an alternative to maize for feeding calves for fattening.

Key words: *in vivo*; *in sacco*; rumen degradable protein; intestinal digestible protein; *in vitro* gas production.

¹ Submitted August 19, 2012 – Accepted July 20, 2017. This work is licensed under a [Creative Commons Attribution 4.0 International License](https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/)

INTRODUCCIÓN

La leche y la carne que se produce por los rumiantes dependen en gran medida del uso digestivo de los constituyentes de la ración, y una gran parte de esos componentes se encuentran en concentrados, granos o subproductos de grano ricos en almidón y proteínas. (Ramos et al., 2009). La digestibilidad se define como la cantidad de alimento que desaparece en el tracto digestivo o en un procedimiento de laboratorio debido a su solubilización o ataque por los microorganismos anaerobios ruminales. Mientras que, la degradabilidad se refiere a la cantidad de alimento que es descompuesto en los elementos que lo integran, mediante procesos biológicos o químicos (Navarro et al., 2011); por lo tanto, el conocimiento de la digestibilidad de los alimentos es básico para establecer su valor nutritivo, biodisponibilidad de nutrientes y la dinámica de los procesos de solubilización e hidrólisis en el tracto gastrointestinal. Los parámetros de la cinética de fermentación determinan la proporción de nutrientes consumidos que pueden ser absorbidos y utilizados por el animal, y dependen de un activo crecimiento y desarrollo de la población microbiana del rumen (Bochi-Brum et al., 1999; Arce et al., 2003). En el proceso digestivo los nutrientes pueden ser hidrolizados, fermentados y degradados por microorganismos ruminales, por lo que se han desarrollado diversos procesos en los granos (molido, rolado seco, hojueado, reconstitución, enzimas, etc.) para reducir el tamaño de partícula e incrementar su digestión en rumiantes, permitiendo al animal aprovechar los productos finales (ácidos grasos y amoníaco principalmente), así como una parte de la proteína de la dieta (Hibberd et al., 1982; DePeters et al., 2003; Altamirano et al., 2004; Giraldo et al., 2007; Al-Rabadi et al., 2011). Debido a que, en los estudios *in vivo* la digestibilidad de los alimentos sólo pueden ser evaluados en raciones totales y se ve afectada por numerosos factores, entre los que destacan el tipo de ración, cantidad ingerida de alimento y el estado fisiológico, por lo que su determinación es un proceso laborioso y costoso, y que requiere el empleo de grandes cantidades de alimento, se han numerosos análisis de laboratorio para estimar la digestión ruminal e intestinal del alimento (Zinn, 1990; Calsamiglia et al., 1995; Bochi-Brum et al., 1999; Gargallo et al., 2006; Cone et al., 2009) utilizando varios procedimientos enzimáticos los cuales son simples y de costo razonable comparado con los métodos *in vivo* (Danesh Mesgaran et al., 2005).

La técnica de producción de gas es un método *in vitro* que permite determinar la extensión y la cinética de degradación del alimento a través del volumen de gas producido durante el proceso fermentativo el cual puede ser cuantificado (Pell et al., 1993; Theodorou et

al., 1994). El método *in sacco*, tiene como objetivo fundamental proporcionar estimativas de la tasa y la dinámica de la degradación de los constituyentes de los alimentos sometidos al efecto del ambiente ruminal (Olivera, 2001; Adesogan et al., 2005). El sistema Daisy^{II} (ANKOM Corp., Fairport, NY, EEUU) se utiliza como método alternativo para calcular la degradación *in vitro* del alimento en el rumen e intestino en condiciones de laboratorio.

El objetivo del presente estudio fue evaluar la digestibilidad de la proteína (proteína degradable en rumen PDR, proteína no degradable en rumen PNDR, proteína degradable en intestino PDI) en el grano de sorgo y maíz por métodos *in vitro* e *in vivo*, así como su efecto en el tamaño de partícula.

MATERIALES Y MÉTODOS

Procesamiento de maíz y sorgo

Se obtuvieron muestras de maíz y sorgo de un lote comercial, el cual contenía los granos enteros y cantidades insignificantes de granos partidos. Los granos enteros fueron quebrados (Molino azteca[®], 1 mm Ø) para asegurar un tamaño de partícula homogéneo en ambas muestras y se tomaron 1000 g de muestra para análisis posteriores.

Evaluación *in vivo*

Se utilizaron cuatro terneros Holstein-Angus (PVI, 400±50 kg) equipados con cánula en rumen y duodeno, los cuales fueron alimentados con uno de dos tratamientos maíz y sorgo. Los animales fueron alimentados a las 0800 y 2000 h al 2 % PV, con acceso libre al agua. Cada periodo experimental tuvo una duración de 20 d, los primeros 15 d para adaptación a las dietas y 5 d para la recolección de muestras. Las dietas se utilizaron (Tabla 1) con un 73% de inclusión en MS de cada uno de los tratamientos y el resto (% MS) fue a base de alfalfa (6%), heno de avena (12%), melaza de caña (5%), urea (1%), sales minerales (0.05%), para cubrir las necesidades de mantenimiento (NRC, 1996). Se utilizó óxido de cromo (Cr₂O₃) al 0.40% de inclusión como marcador de flujo (Delagarde et al., 2010). Se tomaron muestras de heces (400 g/d) y contenido duodenal (750 ml/ hora de muestreo), por cuatro días consecutivos, el día 16 a las 0750 y 1350 h, el día 17 a las 0900 y 1500 h, el día 18 a las 1050 y 1650 h y el día 19 a las 1200 y 1800 h. Las muestras fueron almacenadas diariamente y congeladas a -20° C para análisis posteriores.

Tabla 1. Composición de las dietas experimentales (MS).

Inclusión, % (en MS)	Maíz ^a	Sorgo ^a
	quebrado	quebrado
Cereal	73	73
Alfalfa heno	6	6
Avena heno	12	12
Melaza	5	5
Urea	1	1
Ortofosfato	0.20	0.20
Oxido de magnesio	0.20	0.20
Bicarbonato de sodio	0.50	0.50
Microminerales ^b	0.05	0.05
NaCl	0.50	0.50
Oxido de cromo ^c	0.40	0.40
Composición de los cereales (MS) ^d		
EN, Mcal/kg		
Mantenimiento	1.90	1.62
Ganancia	1.28	1.03
Proteína Cruda, %	9.01	10.69
Extracto etereo, %	7.70	5.61
FND, %	9.54	12.85
Calcio, %	0.47	0.81
Fosforo, %	0.26	0.24

^aMaíz Quebrado Seco (MQS), Sorgo Quebrado Seco (SQS).

^bContenido de la premezcla de microminerales: Magnesio 10%, Zinc 10%, Hierro 10%, Cobre 2%, Yodo 0.12%, Selenio 0.06%, Cobalto 0.02%.

^cAdicionado como marcador en la digesta. ^dBasado en los valores de EN (NRC, 1996).

Evaluación *in situ*

Se utilizaron dos bovinos de raza Holstein (PV 400 ± 50 Kg) con cánula ruminal permanente para determinar la digestibilidad de la MS y la proteína (PC) de acuerdo con la técnica descrita por Ørskov y McDonald (1979). Los animales fueron alimentados *ad libitum* (0800 y 1600 h), con la dieta descrita anteriormente (tabla 1). Se pesaron 5 g MS de muestra de alimento y fueron colocados en bolsas de nylon (Ankom R510, 5 X 10 cm, con tamaño de poro de 50 µm), para posteriormente ser sometidas a 24h

de incubación ruminal por triplicado, posteriormente las bolsas fueron lavadas manualmente con agua corriente hasta que escurrió limpia y secados en estufa de aire forzado a 60° C por 72 horas para análisis posteriores.

Digestibilidad ruminal *in vitro*

Las muestras de grano fueron incubadas *in vitro*, para la cual se preparó un medio de cultivo de acuerdo a la metodología descrita por Ankon Technology, Inc.(Macedon, NY, USA) para un equipo Daisy^{II}, que consta de dos soluciones buffer: solución A: KH₂PO₄ (10 g/l), MgSO₄•7H₂O (0.5 g/l), NaCl (0.5 g/l), CaCl₂•2H₂O (1 g/l), Urea (grado reactivo; 0.5g/l); solución B: NaCO₃ (15 g/l) y Na₂S • 9H₂O (1g/l). El medio de cultivo se realizó en una proporción de 4:1 (medio de cultivo: líquido ruminal) a una temperatura de 39° C, agitando la solución para permitir una mezcla uniforme. El líquido ruminal se obtuvo de los dos bovinos fistulados mencionados anteriormente. Se utilizaron 24 bolsas de nylon (Ankom R510, 5 X 10 cm, con tamaño de poro de 50 µm) depositando en cada una de ellas 5 g MS de muestra. Los granos fueron incubados por 24 h, depositando tres bolsas por jarra, realizándose dos repeticiones. Pasado el tiempo las bolsas fueron lavadas con agua hasta que el agua escurrió limpia, para después ser secadas en estufa de aire forzado a 60° C por 72 horas para análisis posteriores.

Digestibilidad intestinal *in vitro*

Los residuos obtenidos de la digestión *in vitro* (Daisy^{II}) e *in situ* fueron sometidos a una digestión intestinal (pepsina-pancreatina) para determinar la proteína degradable en intestino (PDI), de acuerdo con el método descrito por Gargallo et al. (2006). En cada una de las jarras de digestión se incubaron al azar ocho replicas (bolsas Ankom R510, 5 X 10 cm, con tamaño de poro de 50 µm) por tratamiento (4 bolsas/jarra con 2 g MS de muestra), incluyendo un blanco, con el fin de generar el factor de corrección; se introdujeron dentro de cada jarra que contenía una solución de 2 L de HCl al 0.1 N ajustada a un pH de 1.9 con 1 g/L de pepsina (P-700), permaneciendo por un tiempo de 1 h a una rotación constante a 39° C. Pasado ese tiempo, las bolsas fueron lavadas manualmente con agua corriente hasta que escurrió limpia, posteriormente fueron depositadas dentro de las jarras de incubación (4 bolsas/jarra) los cuales contenían 2 L de una solución de pancreatina (con una solución buffer de KH₂PO₄ al 0.5M ajustada a un pH de 7.75) conteniendo 50 ppm de timol y 3 g/L de pancreatina (P-7545, Sigma), y permanecieron a una rotación circular constante a 39° C durante 24 h. Posteriormente se lavaron con agua corriente hasta

que escurrió limpia y secados en estufa de aire forzado a 60° C por 72 horas para análisis posteriores.

Producción de gas *in vitro*

Para determinar la cinética de degradación ruminal se utilizó la técnica de producción de gas *in vitro* de acuerdo con el método descrito por Theodorou et al. (1994) y Mauricio et al. (1999). Aproximadamente 0.800 g MS de cada ingrediente fueron incubados en botellas de vidrio con 90 ml de solución buffer y 10 ml de líquido ruminal teniendo una réplica de tres botellas por muestra. El líquido ruminal fue colectado de dos bovinos de raza Holstein (PV 400 ± 50 Kg). De cada bovino se colectó una cantidad aproximada de 0.5 L de líquido ruminal y 100 g de sólido previo a la alimentación (0730 h) de los animales y filtrado en triple capa de gasa y lana de vidrio, se homogenizó con CO₂ durante cinco minutos, posteriormente fueron mezclados y utilizados como inóculo. Las botellas fueron incubadas en un baño de agua a 39° C. El volumen de gas fue registrado a las 3, 6, 9, 12, 18 y 24 h de incubación (Streeter et al., 1993) por medio de un transductor de presión marca Delta (Modelo HD 8804). Una vez finalizado el periodo de incubación, se tomó una muestra de contenido de los frascos para posteriores análisis y las muestras fueron filtradas y secadas (48 h, 65 °C) para determinar la proporción de materia seca desaparecida (MSd). La producción de gas a las 24 h se correlacionó con la materia seca desaparecida para obtener la producción de gas relativa (PGR, ml gas g⁻¹ MSd) (Gonzalez Ronquillo et al., 1998).

Análisis de laboratorio

Para determinar tamaño de partícula de los granos procesados se usó un agitador W. S TYLER 8570 (Mod. RX-812) con cribas del número 6 (3.360 mm), 7 (2.830 mm), 10 (2.000 mm), 20 (0.840 mm), 30 (0.590 mm) y 40 (0.420 mm) con 10 minutos de agitación (Ensor, 1970). El contenido de MS del alimento, heces y contenido duodenal fue determinado en una estufa de aire forzado (60° C, 48 h) posteriormente se molieron (molino Wiley, 1 mm Ø) para determinar: Cenizas (600° C por 3 h), y su diferencia para Materia Orgánica (MO), N utilizando el método Kjeldahl (AOAC, 1991) y la proteína cruda (PC) fue calculada como N X 6.25, FDN (Goering y Van Soest, 1970) utilizando alfa amilasa (ANKOM FAA). En el contenido duodenal se determinaron N-NH₃ (Chaney et al., 1962). Para la determinación de energía bruta (EB) se utilizó una bomba calorimétrica adiabática PARR® (Gallenkamp, Automatic Adiabatic Bomb). La digestión del marcador (Cr) se realizó mediante la técnica descrita por Hill y Anderson (1958), posteriormente la concentración del marcador (Cr₂O₃) en duodeno y heces se determinó por

espectrofotometría de absorción atómica, después de la solubilización de las muestras incineradas (Siddons et al., 1985).

Los residuos de las muestras (maíz y sorgo) utilizadas en las pruebas de incubación ruminal y pepsina-pancreatina, así como los residuos de producción de gas fueron analizados para MS (60° C, 48 h, en una estufa de aire forzado) y N (método Kjeldahl; AOAC, 1991). La PDI no fue determinada en los residuos de producción de gas debido a que no fue suficiente.

Una vez finalizado el tiempo de lectura de cada periodo de incubación de la Producción de gas *in vitro*, se registró la lectura de pH (Conductronic pH 130) a cada frasco, posteriormente se filtró el líquido y se tomaron 5 ml para la determinación de ácidos grasos volátiles (AGV'S) por el método propuesto por Jouany (1982) utilizando el 4-metil valérico como marcador interno, y 10 ml a los cuales se les adicionó 3.5 ml de HCl para la obtención de N-NH₃ (Weatherburn, 1967). La producción de metano se calculó de acuerdo con el modelo descrito por Wolin (1960).

Cálculos

Para el cálculo de tamaño de partícula se utilizó la siguiente fórmula:

$$d_{gw} = \log^{-1} \frac{\sum(W_i \log d_i)}{\sum W}$$

$$S_{gw} = \log^{-1} \left[\frac{\sum W_i (\log d_i - \log d_{gw})^2}{\sum W} \right]^{1/2}$$

Dónde: d_i = Diámetro de la abertura de la malla de ith criba, d_{i+1} = Diámetro del tamaño de la próxima criba que ith es la criba (justo sobre el grupo), d_{gw} = Diámetro de la media geométrica, d_i = Diámetro geométrico de la partícula en ith criba., ith criba = [d_i X d_{i+1}]^{1/2}, S_{gw} = Desviación estándar geométrica.

Digestibilidad *in vivo*

La digestión del N se calculó mediante la siguiente fórmula (Faichney, 1975):

Digestibilidad ruminal del nutriente = 100 - 100 [(% marcador en el alimento/% marcador en duodeno) X (% de nutriente en duodeno/% de nutriente en alimento)]

Digestibilidad *in vivo*, *in vitro* (Daisy^{II}) e *in sacco*

La materia seca desaparecida fue calculada mediante la siguiente fórmula:

Digestibilidad del nutriente = [(Consumo del nutriente – nutriente en heces) / consumo del nutriente] X 100

Digestibilidad intestinal

In vitro. La digestión pepsina-pancreática del N se calculó como: el N en la muestra original menos el N restante después de la incubación pepsina-pancreática dividido por el N de la muestra original (Gargallo et al., 2006).

In vivo. La digestión intestinal del N se calculó mediante la siguiente fórmula:

Digestibilidad del nutriente = [(g nutriente que entra al intestino – nutriente en heces)/g nutriente que entra al intestino] X 100

Producción de gas *in vitro*

La producción de gas se estimó en ml/gas por hora, así mismo se ajustó al modelo propuesto por France et al. (1993) $y = a [1 - \exp(-b(t - T) - c(\sqrt{t} - \sqrt{T}))]$. Dónde: “y” es la producción total de gas (ml), “t” es el tiempo de incubación (horas), a es la producción potencial de gas (ml), b describe la tasa fraccional de producción de gas (ml/h) y c es la tasa constante de producción de gas ($h^{-1/2}$), T representa el tiempo de retraso (horas) en que los microorganismos colonizan el sustrato para comenzar la fermentación.

Análisis estadístico

Los datos obtenidos de las pruebas *in vitro* e *in sacco* fueron ajustados a un análisis de varianza mediante la utilización de un diseño completamente al azar.

$$Y_{ijk} = \mu + T_j + \varepsilon_{ijk}$$

Dónde: μ es la media general, T es el efecto debido al cereal y ε es error experimental.

En el análisis de varianza, se incluyó el cereal (n = 4) y su repetición (3 tandas de incubación). El análisis de varianza correspondiente se hizo mediante el procedimiento ANOVA del programa estadístico SAS (2002). Los promedios se compararon mediante la prueba de Tukey (Steel y Torrie, 1997).

Los datos obtenidos por el efecto de los tratamientos *in vivo* en las características de digestibilidad, flujos y dinámica ruminal fueron ajustados a un tabla latino 2 X 2 replicado dos veces, y analizados utilizando el procedimiento PROC GLM de SAS (2002) (Versión 9.0, SAS Inst., Inc. Cary, NC):

$$Y_{ijk} = \mu + P_i + A_j + T_k + \varepsilon_{ijk}$$

Donde, μ es la Media general, P_i es el efecto del periodo, A_j es el efecto del animal, T_k es el efecto debido al tratamiento y ε_{ijk} es el error aleatorio.

Los datos obtenidos entre técnicas (*in vivo*, *in vitro* e *in sacco*) fueron ajustados a un análisis de varianza mediante la utilización de un diseño completamente al azar.

$$Y_{ijk} = \mu + T_j + \varepsilon_{ijk}$$

Dónde: μ es la media general, T es el efecto debido al cereal y ε es error experimental.

En el análisis de varianza, se incluyó la técnica (n=3) y su repetición (3 tandas de incubación). El análisis de varianza correspondiente se hizo mediante el procedimiento ANOVA del programa estadístico SAS (2002). Los promedios se compararon mediante la prueba de Tukey (Steel y Torrie, 1997).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Composición química y tamaño de partícula

La industria de los alimentos evalúa el tamaño de partícula utilizando métodos como el molido y el quebrado para evaluar las raciones de los animales, estos métodos son comúnmente utilizados en los cereales para aumentar la superficie de área a la degradación microbiana reduciendo las barreras físicas que existen alrededor de los granos exponiendo los nutrientes del grano (proteína y almidón) (Yang et al., 2005; Arzola-Álvarez et al., 2010). El efecto del procesamiento utilizado, la composición química y las características físicas se muestran en la tabla 2 y 3. El quebrado de los granos de sorgo, además de romper el pericarpio duro, alteró la matriz proteica que encapsula los gránulos de almidón, lo que conduce a una mayor disponibilidad de nutrientes; sin embargo, la variación en la FND y el contenido de almidón en la composición química del maíz varió por método de procesamiento, lo cual puede indicar alguna separación en componentes del grano de maíz (Galyean et al., 1981). Las diferencias ($P < 0.01$) en el tamaño de partícula entre las diferentes cribas utilizadas (tamaño de poro), el sorgo presenta un menor tamaño de partícula (μm : $P < 0.01$), así como una mayor ($P < 0.01$) área de superficie. La disminución de la partícula en el sorgo quebrado y el aumento en área de superficie con la reducción en el tamaño de poro se atribuye a un aumento lineal en el número de partículas por gramo de muestra (Wadhwa et al., 1998; Balogun et al., 2006).

Tabla 2. Composición química de los cereales (g/kg MS).

Ítem	Maíz	Sorgo	EEM	P<
MS	985.46	985.34	0.71	0.93
MO	981.58	980.74	0.30	0.21
N	15.71	15.71	0.04	1.00
Almidón	715.93 ^a	730.12 ^b	1.81	0.01
FND	126.10 ^a	117.46 ^b	0.20	0.01
EB, MJ/kg MS	20.39	18.03	0.25	0.01

Tabla 3. Tamaño de partícula (mm) y características físicas del grano de maíz y sorgo.

%	Maíz	Sorgo	EEM ²	P <
> 3.36	32.39 ^a	0.47 ^b	0.002	0.01
3.36 - 2.83	49.77 ^a	6.03 ^b	0.003	0.01
2.83 - 2.00	16.23	17.71	0.005	0.21
2.00 - 0.84	0.68 ^a	57.14 ^b	0.004	0.01
0.84 - 0.59	0.19 ^a	11.55 ^b	0.002	0.01
0.59 - 0.42	0.45 ^a	3.99 ^b	0.002	0.01
< 0.42	0.26 ^a	3.12 ^b	0.001	0.01
GMPS, µm	3026.00 ^a	1042.20 ^b	0.233	0.01
SA cm ² /g	20.22 ^a	77.23 ^b	0.778	0.01
Particle/g	39.2 ^a	2589.6 ^c	0.473	0.01
GSD	1.30 ^a	1.71 ^b	0.013	0.01

^{ab} Medias con diferente literal en la misma hilera son estadísticamente diferentes (P<0.01)

GMPS, Tamaño de particular media geométrica; GSD, Desviación estándar geométrica; SA, Superficie de área.

²EEM = Error estándar de la media

Digestibilidad de la proteína

En la tabla 4 se presentan las digestibilidades por cereal y por técnica. La digestibilidad de la MSd, PNDR y PDI fue similar para ambos cereales. La proteína degradable en rumen (PDR) fue mayor (P<0.01) para el sorgo. Los métodos de procesamiento a los que son sometidos los cereales modifican la velocidad de degradación ruminal y con ello la proporción de almidón o proteína que se digiere en éste u otros tramos posteriores del tracto digestivo, esto puede tener una importante incidencia en la eficiencia con la que se utiliza la dieta y en la respuesta productiva del animal, dada la influencia que el lugar de digestión tiene sobre el tipo de

nutrientes absorbidos; por lo tanto, algunos efectos medidos del quebrado se relaciona con el tamaño de partícula y por consiguiente a la superficie de área disponible; por lo tanto, en cuanto menor sea el tamaño de partícula, más digerido será el grano (Lowman et al., 2002; Mahasukhonthacha et al., 2010).

La digestibilidad entre los métodos utilizados (*in vivo*, *in sacco*, Daisy II y producción de gas), fue mayor para el método *in sacco* (P<0.01). Debido a que el contenido de nitrógeno en los granos es menor, son más pesados lo que hace que aumente la gravedad específica facilitando la salida del rumen y reduciendo así el tiempo de retención, por lo que la digestibilidad en el método *in vivo* se ve disminuida (Histrov et al., 2003); mientras que Beauchemin et al. (2001) menciona que con el grano procesado se obtiene una mayor digestibilidad de la MS en las bolsas de nylon incubadas en novillos, aumentando la tasa fraccionaria de degradación.

Aunque las muestras frescas promueven problemas para los análisis *in vitro* e *in situ*, generalmente muchos alimentos se ingieren en su forma fresca, y estimar la velocidad y el grado de digestión mediante la incubación puede ser engañoso. En el caso del sorgo, la textura del endospermo tiene un efecto significativo en la digestibilidad *in vitro* de la proteína y el almidón y una explicación probable para la degradación de la proteína es que se sabe que produce menos gas por unidad de sustrato que los carbohidratos (Lowmann et al., 2002; Yang et al., 2005; Wong et al., 2009); siendo esta una posible respuesta a la baja digestibilidad mostrada en el presente estudio.

Producción de gas

En la tabla 5 se presentan los parámetros de la producción de gas *in vitro* obtenidos del ajuste de la incubación (ml gas/g MS incubado) de los cereales utilizados en el presente estudio, donde se observa una ligera diferencia de la fracción A (ml gas/g MS incubado) siendo menor (P>0.01) para el maíz, la velocidad con la cual los microorganismos del rumen fermentan los componentes del alimento o tasa de producción de gas (b) y la fracción c fue mayor (P<0.01) para el maíz, para la fase de retardo o fracción lag el sorgo mostró un menor tiempo de retardo de la producción de gas (P<0.01). Para la MSd (mg/100 mg) no se encontraron diferencias (P<0.93) entre ambos cereales, mientras que la PGR (ml gas/g MS) fue mayor (P<0.01) para sorgo. Una estimación de la degradación puede hacerse por incubación de las muestras *in vitro* con líquido ruminal. La digestibilidad se deriva a partir de la desaparición de la MS (Tilley and Terry, 1963) o la

cantidad de gas producido (Menke et al., 1979) después de un periodo de incubación fijo. Las curvas de producción de gas para las medias de maíz y sorgo se presentan en la figura 1. Las diferencias de producción de gas ocurren después de las primeras 9 h hasta las 24 h. Estas diferencias se atribuyen al contenido del endospermo corneo contenido en la matriz proteica del maíz y sorgo, ya que es resistente a la degradación, siendo mayor en el sorgo, por lo tanto, se esperaría que fuera menos digestible que el maíz (Streeter et al., 1993). Sin embargo, la producción de gas para el sorgo fue mayor ($P < 0.001$), las razones de una mayor producción de gas mayor no son claras; sin embargo, puede estar relacionado con el tamaño de partícula y la estructura del almidón; ya que estudios anteriores sobre la digestibilidad del almidón purificado en cultivos de sorgo mostraron que el almidón del sorgo resultó ser más digestible que el maíz (Hibberd et al., 1982; Kotarsky et al., 1992; Streeter et al., 1993), por su parte Hale (1973) indicó que la ruptura de la matriz proteica alrededor del almidón puede mejorar la digestión del grano

procesado. Aproximadamente el 72 y el 73% del total de la MS es almidón (Tabla 2) y la fermentación a partir de la proteína es relativamente poca, por lo que el almidón representa la mayor producción de gas (DePeters et al., 2003), por lo tanto, las tasas de digestión entre el maíz y el sorgo pueden ser parcialmente explicadas porque el contenido de almidón es mayor y es menos numeroso en el maíz que en el sorgo (Streeter et al., 1993). Una fermentación microbiana más rápida aumentando el consumo de alimento en los animales siempre que el pH no disminuya considerablemente (Ataşoğlu et al., 2006). La comparación de las tasas de digestión *in vitro* entre sorgo y maíz pueden proveer información valiosa acerca del sitio y alcance de digestión. La producción de gas resulta de la fermentación de los carbohidratos solubles y estructurales del sustrato, mientras que la fermentación de proteínas y lípidos es escasa (Getachew et al., 1998).

Tabla 4. Digestibilidad (g/100g MS) de la materia seca (MS), proteína degradable en rumen (PDR), proteína no degradable en rumen (PNDR), proteína digestible en intestino (PDI) del sorgo y maíz.

Item	Maíz	Sorgo	EEM	P<	<i>In vivo</i>	<i>In sacco</i>	<i>In vitro</i> (Daisy ^{II})	<i>In vitro</i> (Pgas)	EEM	P<
MSd	65.81	65.74	0.43	0.93	64.75 ^a	68.20 ^b	67.51 ^b	65.35 ^c	0.19	0.01
PC	9.80	9.80	0.15	0.21						
PDR	45.22 ^a	49.23 ^b	0.87	0.02	42.60 ^a	51.03 ^b	52.92 ^b	42.36 ^a	0.51	0.01
PNDR	51.31	50.76	1.02	0.78	57.40 ^a	48.96 ^b	47.07 ^b	57.64 ^a	0.82	0.01
PDI	60.49	58.61	1.05	0.37	61.37 ^a	65.70 ^b	65.40 ^b	--	0.36	0.01

^{abc} Medias con diferentes literales dentro de la misma hilera son diferentes $P < 0.01$

MSd, Materia seca desaparecida; PC, proteína cruda; PDR, proteína degradable en rumen; PNDR, proteína no degradable en rumen; PDI, proteína digestible en intestino.

EEM = Error estándar de la media

Tabla 5. Parámetros de producción de gas *in vitro* (ml gas/g MS) de granos de sorgo y maíz

item	Producción de gas <i>in vitro</i>					
	Lag time				MSd _{24h}	PGR
A	b	c				
Maiz	89.02d	0.021d	0.037d	1.20d	65.81	135.26d
Sorgo	94.94e	0.018e	0.031e	0.74e	65.74	144.41e
EEM	0.16	0.22	0.55	0.04	0.43	0.51
Valor-P	0.01	0.01	0.01	0.01	0.93	0.01

A: Producción total de gas (ml gas/g MS incubado), **b:** tasa de fermentación (h^{-1}), **c:** tasa de fermentación ($h^{-1/2}$), lag time (h), MSd_{24h}: MS desaparecida a las 24h (mg/100 mg), PGR: (ml gas 24h/g MSd_{24h}). EEM, error estándar de la media. ^{de} Diferentes letras entre hileras son diferentes significativamente $P < 0.01$.

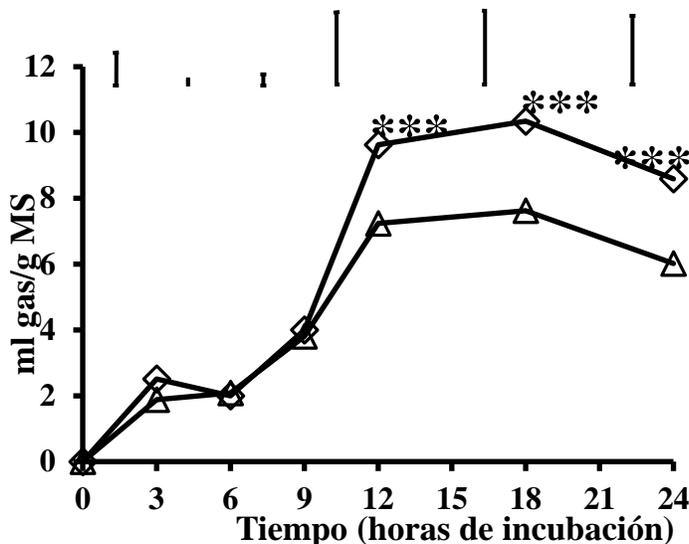


Figura 1. Producción de gas a las 24 horas (ml gas/g MS) de Sorgho quebrado (◇) y Maíz quebrado (Δ), las barras muestran la desviación estándar que existe entre los granos utilizados, *** muestran diferencias significativas ($P < 0.001$).

Parámetros de fermentación ruminal *in vitro*

Los datos obtenidos al final de la fermentación se muestran en la tabla 6. Las muestras utilizadas (maíz y sorgo) fueron similares para pH, la producción de N-NH₃ fue mayor ($P < 0.01$) para maíz, mientras que la producción total de AGV's al final de la fermentación (mol/100mol) de cada sustrato no presentó diferencias ($P > 0.05$), entre los cereales evaluados. La fuente de carbohidratos de la dieta influye en la proporción de AGV's producidos en el rumen. Desde el tipo de AGV's formados afecta la cantidad de gas producido. Los carbohidratos no fibrosos (almidón) promueven la producción de ácido propiónico ya que son fermentados más eficientemente; sin embargo, el consumo excesivo de carbohidratos altamente fermentables por los animales ocurre cuando estos son adaptados primero a dietas altas en concentrados y/o cuando a los animales se les cambia de dieta, provocando una variación en el pH ruminal (Dijkstra et al., 2005; Owens et al., 1998). El pH obtenido por la fermentación de los cereales utilizados no muestra variación alguna, encontrándose dentro de los parámetros, el cual oscila de 6.2 a 7.0 (Calsamiglia et al., 2002). Álvarez et al. (2001), citan un pH de 6.0 en dietas para vacas lecheras con maíz quebrado seco menor a lo encontrado en el presente estudio. Los productos que se obtienen al final del proceso fermentativo dependen en parte, de los microorganismos presentes en un momento dado en el rumen ya que los compuestos de algunas bacterias

pueden ser utilizados por otros para su metabolismo (Weston et al., 1968). La producción de ácido acético y ácido butírico encontrado en el presente estudio no difieren a lo mostrado por Corona et al. (2006), quienes encuentran una producción de ácido acético de 58 – 67 y de 10 - 11 mol/100 mol respectivamente; sin embargo, la producción de ácido propiónico mostró una tendencia ($P = 0.08$) para los granos utilizados en el presente estudio con respecto Corona et al. (2006) quienes reportan una concentración de 24 a 26 mol/100 mol utilizando maíz rolado seco en dietas para ganado de engorda. El aumento de ácido propiónico se observa cuando la cantidad de concentrado adicionada es elevada y su composición es a base de granos con altas cantidades de almidón, por otra parte, la adición de concentrados disminuye la producción de metano (Blaxter et al. 1964). Este aumento puede deberse a que durante el tratamiento previo existe un grado de fragmentación parcial de los gránulos de almidón (Trei et al., 1966).

CONCLUSIONES

El molido del sorgo mejora su valor alimenticio aumentando su digestibilidad, lo que representa una alternativa ante el maíz para la alimentación de terneros en engorda. Las técnicas *in situ* e *in vitro* (DaisyII®) no tuvieron diferencias lo que permiten determinar la digestibilidad de forma rápida y sencilla comparado con los métodos convencionales.

Tabla 6. Parámetros de la fermentación ruminal *in vitro*: pH, N-NH₃, Ácidos grasos volátiles (AGV) y concentración de metano (mol/100mol) en granos de maíz y sorgo.

	Maíz	Sorgo	EEM	Valor-P
pH	7.0	7.0	0.17	0.13
N-NH ₃ (mg/dl)	11.0 ^a	9.7 ^b	0.26	0.01
AGV (mmol/100mol)				
Acético (A)	63.12	61.94	0.51	0.27
Propiónico (P)	27.04	28.46	0.34	0.08
Butírico	9.83	9.59	0.28	0.67
A/P	2.33	2.17	0.04	0.12
Metano	0.54	0.52	0.004	0.06

^{ab} diferentes letras entre hileras son diferentes estadísticamente P<0.01. EEM, error estándar de la media.

REFERENCIAS

- Adesogan A.T., Krueger N.K., Kim S.C. 2005. A novel, wireless, automated system for measuring fermentation gas production kinetics of feeds and its application to feed characterization. *Animal Feed Science and Technology* 123:211–223.
- Al Rabadi J.G., Torley J.P., Williams A.B., Bryden L.W., Gidley J.M. 2001. Effect of extrusion temperature and pre-extrusion particle size on starch digestion kinetics in barley and sorghum grain extrudates. *Animal Feed Science and Technology*. 168:267-279.
- Altamirano D.J., Castro N.S., Mendoza M.G.D., Cobos P.M.A., Ricalde V.R, Plata P.F.X. 2004. Degradabilidad ruminal *in vitro* de almidón de 21 variedades de sorgo (sorghum bicolor. L Moench) con diferente genotipo de resistencia a sequía. *Interciencia*. 29:329-333.
- Álvarez, JH., Santini, JF., Rearte, HD., Elizalde, CJ. 2001. Milk production and ruminal digestion in lactating dairy cows grazing temperate pastures and supplement with dry cracked corn or high moisture corn. *Animal Feed Science and Technology*. 91:183–195.
- Ankom Technology 2008 Procedures for fiber and *in vitro* analysis URL: http://www.ankom.com/09_procedures/Daisy%20method.pdf
- AOAC, 1991. Official methods of analysis. 14th ed. Assoc. Offic. Anal. Chem. Arlington, VA
- Arce P.C., Arbaiza F.T., Carcelén C.F., Lucas A.O. 2003. Estudio comparativo de la digestibilidad de forrajes mediante dos métodos de laboratorio. *Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú*. 14:7-12.
- Arzola-Álvarez C., Bocanegra-Viezca J.A., Murphy M.R., Salinas-Chavira J., Corral-Luna A., Romanos A, Ruíz-Barrera O., Rodríguez-Muela C. 2010. Particle size distribution and chemical composition of total mixed rations for dairy cattle: Water addition and feed sampling effects. *Journal of Dairy Science*. 93:4180–4188.
- Ataşoğlu, C. Yurtman, Y.I. 2006. *In vitro* fermentation of different starches by mixed micro-organisms from the sheep rumen. *Journal Animal Physiology and Animal Nutrition*. 91:419–425.
- Balogun O.R., Bird H.S. and Rowe B. J. 2006. Germination temperature and time affect *in vitro* Fermentability of sorghum grain. *Animal Feed Science and Technology*. 127:125–132.
- Beauchemin, K.A., Yang W.Z., Rode L.M. 2001. Effects of barley grain processing on the site and extent of digestion of beef feedlot finishing diets. *Journal of Animal Science* 79:1925-1936.
- Blaxter, K.L., Wainman, W. F. 1964. Utilization of food by sheep and cattle. *Journal of Agricultural Science*. 57:419–422
- Bochi-Brum, O., Carro D.M., Valdés C., González S.J., López S. 1999. *In vitro* digestibility of forages and concentrates: effect of the diet of donor animals. *Archivos de Zootecnia*. 48:51-61.
- Calsamiglia, S., Ferret, A. 2002. Fisiología ruminal relacionada con la patología digestiva: Acidosis y Meteorismo. XVIII Curso de especialización FEDNA. Barcelona, 4 y 5 de Noviembre de 2002. pp. 97-115.
- Calsamiglia, S., Stern, D.M. 1995. A three-step *in vitro* procedure for estimating intestinal

- digestion of protein in ruminants. *Journal of Animal Science*. 73:1459–1465.
- Chaney A. L., Marbach E. P. 1962. Modified reagents for determination of urea and ammonia. *Clinical Chemistry* 8:130–132.
- Cone J.W., Rodrigues M.A.M., Guedes C.M., Blokc M.C. 2009. Comparison of protein fermentation characteristics in rumen fluid determined with the gas production technique and the nylon bag technique. *Animal Feed Science and Technology*. 153:28-38.
- Corona, L., Owens, N.F., Zinn, A.R. 2006. Impact of corn vitreousness and processing on site and extent of digestion by feedlot cattle. *Journal of Animal Science*. 84:3020-3031.
- Danesh Mesgaran, M., Stern, D.M. 2005. Ruminal and post-ruminal protein disappearance of various feeds originating from Iranian plant varieties determined by the *in situ* mobile bag technique and alternative methods. *Animal Feed Science and Technology*. 118:31–46.
- Delagarde R., Pérez-Ramírez E. Peyrauda J.L. 2010. Yentterbium oxide has the same accuracy as chromic oxide for estimating variations of faecal dry matter output in dairy cows fed a total mixed ration at two feeding levels. *Animal Feed Science and Technology*. 161:121–131.
- DePeters, J.E., Getachew, G., Fadel, G. J., Zinn, A. R., Taylor, J.S., Pareas, W. J., Hinders, G. R., Aseltine, S. M. 2003. *In vitro* gas production as a method to compare fermentation characteristics of steam-flaked corn. *Animal Feed Science and Technology*. 105:109–122.
- Dijkstra, J., Kebreab, E., Bannink, A., France, J., López, S. 2005. Application of the gas production technique to feed evaluation systems for ruminants. *Animal Feed Science and Technology*. 123:561–578.
- Ensor, H.H. 1970. A report: Committee on classification of particle size in feedstuffs. *Journal of Dairy Science*. 53:689–670.
- Faichney, G.J. 1975. The use of markers to partition digestion within the gastro-intestinal tract of ruminants. In: I. W. McDonald and A. C. I. Warner (Ed.). *Digestion and Metabolism in the Ruminant*. Univ. of New England Publ. Unit. Armidale, Australia.
- France, J., Dhanoa, S.M., Theodorou, K.M., Lister, J.S. Davies, R.D., Isac, D. 1993. A model to interpreted gas accumulation profiles associates whit *in vitro* degradation of ruminants feeds. *Journal of Theoretical Biology*. 163:99–11.
- Galyean M.L., Wagner D.G., Owens F.N. 1981. Dry matter and starch disappearance of corn and sorghum as influenced by particle size and processing. *Journal of Dairy Science* 64:1804-1812.
- Gargallo, S., Calsamiglia, S., Ferret, A. 2006. Technical note: A modified three-step *in vitro* procedure to determine intestinal digestion of proteins. *Journal of Animal Science*. 84:2163-2167.
- Getachew, G., Blummel, M., Makkar, S.P.H., Becker, K. 1998. *In vitro* gas measuring techniques for assessment of nutritional quality of feeds: a review. *Animal Feed Science and Technology*. 72:261-281.
- Giraldo A.L., Gutiérrez A.L., Rúa C., 2007. Comparison between *in vitro* and *in situ* protocols for estimating true digestibility of several tropical forages. *Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias*. 20:269-279.
- Goering, H.K. and P.I. Van Soest. 1970. Forage fiber analysts (*apparatus*, reagents, procedures, and some applications). *Agriculture Handbook 379*. ARS, ASDA. Washington, DC.
- González Ronquillo, M., Fondevila, M., Barrios, U.A., Newman, Y. 1998. *In vitro* gas production from buffel grass (*Cenchrus ciliaris L.*) fermentation in relation to the cutting interval, the level of nitrogen fertilization and the season of growth. *Animal Feed Science and Technology*. 72:19-35.
- Hale, W.H. 1973. Influence of processing on the utilization of grains (starch) by ruminants. *Journal of Animal Science*. 37:1075–1080.
- Hibberd, C.A., Wagner, D.G., Schemm, R.L., Mitchel, E. D. Jr., Weibel, D. E., Hintz, R. L. 1982. Digestibility characteristics of isolated starch from sorghum and corn grain. *Journal of Animal Science*. 55:1490–1497.
- Hill, F.N., Anderson, D.L. 1958. Comparison of metabolizable energy and productive determinations with growing chicks. *The Journal of Nutrition*. 64:587-603.
- Hristov, A.N., S. Ahvenjarvi, T.A. McAllister, and P. Huhtanen. 2003. Composition and digestive tract retention time of ruminal particles with functional specific gravity greater or less than 1.02. *Journal of Animal Science*. 81:2639–2648.
- Jouany, J.P. 1982. Volatile fatty acid and alcohol determination in digestive contents, silage juices, bacterial cultures and anaerobic fermentor contents. *Journal of Food Science*. 2:131-144.

- Kotarski, S.F., Waniska, R.D., Thurn, K.K. 1992. Starch hydrolysis by the ruminal microflora. *Journal of Nutrition*. 122:178–190
- Lowman S.R., Theodorou K.M., Cuddeford D. 2002. The effect of sample processing on gas production profiles obtained using the pressure transducer technique. *Animal Feed Science and Technology*. 97:221-237.
- Mahasukhonthacha, K., Sopade, A. P., Gidley, J. M. 2010. Kinetics of starch digestion in sorghum as affected by particle size. *Journal of Food Engineering* 96:18–28.
- Mauricio, R.M., Mould, F.L., Dhanoa, M.S., Owen, E., Channa, K.S., Theodorou, M.K. 1999. Semi-automated *in vitro* gas production technique for ruminant feedstuff evaluation. *Animal Feed Science and Technology*. 79:321–330.
- Menke, K.H., Raab, L., Salewski, A., Steingass, H., Fritz, D., Schneider, W. 1979. The estimation of the digestibility and metabolizable energy content of ruminant feedingstuffs from the gas production when they incubated with rumen liquor *in vitro*. *Journal of Agricultural Science*. 93:217–222.
- National Research Council. 1996. Nutrient requirement of dairy cattle. 6th rev. ed. National Academy Press, Washington, D.C.
- Navarro C.A., Díaz J.C., Roa M.L., Cuellar E. 2011. Comparison of digestibility technical *in vitro* with *in situ* of ten fodder in cattle “rumino-fistulados” in: the “Piedemonte Llanero of Meta”. *Revista de Sistemas de Producción Agroecológicas*. 2:2-24.
- Olivera, P.M.R. 2001. Estimación del valor nutritivo de los alimentos para ruminantes con énfasis en las técnicas *in sacco* y la producción de gas *in vitro*. *Revista de Producción Animal*. 13:45–51.
- Ørskov, E.R., McDonald, I. 1979. The estimation of protein degradability in the rumen from incubation measurements weighted according to rate of passage *Journal of Agricultural Science Cambridge*. 92:499-503.
- Owens, N.F., Secrist, S.D., Hill, J.W., Gill, R.D. 1998. Acidosis in cattle: A review. *Journal of Animal Science*. 76:275–286.
- Pell, N.A., Schofield, P. 1993. Computerized monitoring of gas production to measure forage digestion *in vitro*. *Journal of Dairy Science*. 76:1063-1073.
- Ramos, O.M.B., Champion, M., Poncet, C., Mizubuti, Y.I., Nozière, P. 2009. Effects of vitreousness and particle size of maize grain on ruminal and intestinal *in sacco* degradation of dry matter, starch and nitrogen. *Animal Feed Science and Technology*. 148:253–266.
- SAS Inc. 2002–2003. SAS system for windows, release 9.0 (TS1M3). Cary (NC): SAS Institute Inc.
- Siddons, R. C., Nolan, J. V., Beever, D., MacRae, J. C. 1985. Nitrogen digestion and metabolism in sheep consuming diets containing contrasting forms and levels of nitrogen. *British Journal of Nutrition*. 54:175-187.
- Steel, R.G.D., Torrie, J.H. 1997. Principles and procedures of statistics. 39, McGraw Hill, New York.
- Streeter, N.M., Hill, M.G., Wagner, G.D., Hibberd, A.C., Owens, N.F. 1993. Chemical and physical properties and *in vitro* dry matter and starch digestion of eight sorghum grain hybrids and maize. *Animal Feed Science and Technology*. 44:45–58.
- System Analyses Statistics (SAS) for windows. 2002. SAS Institute, Statistical analysis systems user’s guide. SAS Cary, NC.
- Theodorou, K.M., Williams, B.A., Dhanoa, M.S., McAllan, A. B., France, J. A. 1994. A simple gas production method using a pressure transducer to determine the fermentation kinetics of ruminant feed. *Animal Feed Science and Technology*. 48:185–197.
- Tilley, J.M.A., Terry, R.A. 1963. A two-stage technique for the *in vitro* digestion of forage crops. *Journal British Grassland Society*. 18:104-11.
- Trei, J.E., Hale, J.W., Theurer, B. 1966. Influence of grain processing factors on *in vitro* fermentation rate. *Journal of Animal Science*. 25: 910 (Abstract)
- Wadhwa, M., Dharam Paul., Kataria, P., M.P.S. Bakshi, S. P. M. 1998. Effect of particle size of corn grains on the release of nutrients and *in sacco* degradability. *Animal Feed Science Technology*. 72:11–17.
- Weatherburn, W.M. 1967. Phenol-Hypochloite reaction for determination of ammonia. *Analitical Chemistry*. 39:971–975.
- Weston, R.H., Hogan, P.J. 1968. The digestion of pasture plants by sheep. I. Ruminal production of volatile fatty acids by sheep offered diets of rye grass and forage oats. *Australian Journal Agricultural Research*. 19:419–432.
- Wolin, M.J. 1960. A theoretical rumen fermentation balance. *Journal of Dairy Science*. 43:1452-1459.
- Wong, H.J., Lau, T., Cai, N., Singh, J., Pedersen, F.J., Vensel, H.W., Hurkman, J.W., Wilson, D.J., Lemaux, G.P., Buchanan B.B. 2009. Digestibility of protein and starch from sorghum (*Sorghum bicolor*) is linked to

- biochemical and structural features of grain endosperm. *Journal of Cereal Science*. 49:73-82.
- Yang, J.H., Tamminga, S. Barbara, A.W., Dijkstra, J., Boer, H. 2005. In vitro gas and volatile fatty acids production profiles of barley and maize and their soluble and washout fractions after feed processing. *Animal Feed Science and Technology*. 120:125–140.
- Zinn R.A. 1990. Influence of flake density on the comparative feeding value of steam-flaked corn for feedlot cattle. *Journal of Animal Science*. 68:767-775.