

Producción y solubilización *in vitro* de grasa sobrepasante con lisina a diferentes pH como alternativa proteico-energética en bovinos.

Production and *in vitro* solubilization of bypass fat with lysine at different pH as a protein-energy alternative in cattle.

Simón Castro-Valencia, Est Zoot¹; Sebastián Jurado-Castañeda, Est Zoot¹; Carlos Santiago Escobar-Restrepo, PhD².

¹Semillero de Nutrición, Alimentación y Reproducción, SENAR. Estudiante de pregrado en Zootecnia Universidad Católica de Oriente. (correo-e: simoncastro12@gmail.com; sebas.jc1998@gmail.com)

²Grupo de investigación en Agronomía y Zootecnia-GIAZ, Universidad Católica de Oriente. (correo-e: cescobar@uco.edu.co)

Resumen

El propósito de esta investigación fue evaluar la degradación ruminal en el laboratorio y la solubilidad en diferentes soluciones pH para la protección de la lisina por medio de la grasa sobrepasante. Para dicho fin se hicieron tres fases. La fase I correspondiente a la elaboración de la grasa sobrepasante enriquecida; la fase II, determinar la desaparición de la grasa a diferentes pH *in-vitro*; y la fase III, determinar la capacidad de retención de la Lisina. Fase I: se elaboró 500 gr de grasa sobrepasante utilizando aceite de palma, carbonato de calcio, hidróxido de sodio, agua y HCl-Lisina. Fase II: se adecuaron seis recipientes con 6000 ml de agua. Cada recipiente se le controló el pH hasta obtener los siguientes seis (6) tratamientos; (pH): (2,5), (3,5), (4,5), (5,5), (6,5) y (7,5). Se utilizaron bolsas de nylon y se dispuso en cada una de ellas 1.062 ± 0.156 g de grasa sobrepasante, con tres repeticiones por hora (0, 2, 4, 12, 24, 36 y 48 horas). Para la inmersión de las bolsas estas fueron sujetadas a una cadena de acero. A medida que las bolsas eran retiradas de la solución se ingresaban a secado en estufa para su posterior pesaje y determinación de materia seca (MS). Fase III: se utilizaron dos beakers con 1200 ml de agua cada uno, en los cuales se evaluaron los pH más contrastantes; 2,5 y 7,5. A estos se les agregó directamente 220 g de grasa sobrepasante y se dejaron por un periodo de 48 horas. Luego de finalizar este proceso se filtraron y separaron los restos líquidos de los sólidos. La fase sólida seca y la fase líquida fueron rotuladas y enviadas al laboratorio para determinar proteína bruta (PB) por el método de Kjeldahl. Se obtuvo

un producto con un color amarillo caramelo, un sabor amargo, con un olor a detergente, con una textura sólida, áspera y húmeda. Se encontró que para el pH 7,5 se alcanzó el valor máximo a la hora 7 con un porcentaje de desaparición de 85.33%, a diferencia del pH 2,5 que obtuvo un valor máximo de desaparición de 65.82% a las 10 horas. Para los pH 6,5, 5,5 y 3,5 el porcentaje de desaparición obtuvieron valores máximos similares, pero con diferencias con respecto al periodo de tiempo. Estos pH tuvieron un promedio máximo de desaparición de 76.47%, a las horas 9, 1 y 14 respectivamente. Por último, en la porción líquida y sólida de la Fase III, no se encontró residuos detectables de proteína. La formulación de un jabón cálcico es apta para la molienda, almacenamiento y suministro de la grasa sobrepasante a los rumiantes. No hubo una asociación directa sobre el comportamiento del porcentaje de desaparición en los pH cercanos a los valores del rumen (>5.5) y cercanos a los pH del abomaso (<5.5). La adición de HCl-Lisina no representó una estrategia para proteger la lisina del rumen.

Palabras claves: alimentación, aminoácidos, nutrición, proteína sobrepasante, rumen.

Abstract

The aim of this study was to evaluate the *in-vitro* degradation and the solubility of bypass fat with lysine in different pH solutions as a rumen protection strategy of lysine. For this purpose, three phases were carried out. Phase I corresponds to the elaboration of the bypass fat with lysine; phase II, determines the disappearance of fat at different pH *in-vitro*; and phase III, determines the lysine retention capacity. Phase I: 500 g of bypass fat was prepared using palm oil, calcium carbonate, sodium hydroxide, water, and HCl-Lysine. Phase II: six containers with 6000 ml of water were used. The pH of each container was stabilized until the following six (6) treatments were obtained; (pH): (2.5), (3.5), (4.5), (5.5), (6.5), and (7.5). Nylon bags were used, and 1.062 ± 0.156 g of bypass fat was added, with three repetitions per hour (0, 2, 4, 12, 24, 36, and 48 hours). As the bags were removed from the solution, they were dried for subsequent weighing and determination of dry matter (DM). Phase III: two beakers with 1200 ml of water each were used, in which the most contrasting pHs were evaluated; 2.5 and 7.5. A total of 220 g of bypass fat was added directly and left resting for a period of 48 hours. The remaining liquid was filtered and separated from the solids. The dry solid and the liquid phase were sent to the laboratory to determine the crude protein (CP) content. A product with a caramel yellow color, a bitter taste, a detergent smell, and a solid, rough, and wet texture was obtained. It was found that for pH 7.5 the maximum value was achieved

at hour 7 with a disappearance percentage of 85.33%, unlike pH 2.5, which obtained a maximum disappearance value of 65.82% at 10 hours. For pH 6.5, 5.5, and 3.5, the percentage of disappearance showed maximum similar values, but with differences with respect to the period. These pH's had a maximum average disappearance of 76.47%, at hours 9, 1, and 14 respectively. Finally, no detectable protein residues were found in the liquid and solid portions of Phase III. The formulation of a calcium soap is suitable for grinding, storage, and supply of bypass fat to ruminants. There was no direct association between the behavior of the percentage of disappearance at pH values close to the rumen values (>5.5) and close to the pH of the abomasum (<5.5). The addition of HCl-Lysine did not represent a strategy to protect lysine from different pH.

Keywords: amino acids, bypass protein, feeding, nutrition, rumen.

Introducción

El ganado bovino es utilizado en el mundo para transformar los pastos, los forrajes, y los suplementos, en alimento para el consumo humano como lo es el queso, la leche, la carne entre otros, ofreciendo seguridad alimentaria a la comunidad mundial con grandes proporciones de proteína y energía logrando satisfacer los requerimientos nutricionales de las personas. Los bovinos generalmente presentan un desfase en el proceso productivo con respecto al consumo de materia seca ya que se tiene como principal fuente de alimento el pasto, el cual es un forraje que no logra satisfacer los requerimientos nutricionales de los animales por lo tanto necesita de otros suplementos para poder obtener mejores resultados productivos. Los forrajes en Colombia tienen un buen promedio de proteína cruda (Carulla et al 2004). Pero teniendo en cuenta los requerimientos, el animal necesita más porcentaje de proteína en la dieta de lo que ofrecen los pastos y los forrajes, por lo tanto, el animal necesita de un suplemento para poder alcanzar a cubrir la necesidad de la proteína y así obtener mejores resultados. A principios de la década del año 80, el Dr. Palmquist de la universidad de Ohio, descubrió un método innovador de protección de grasas sobrepasantes en el rumen, este tipo de grasa es el producto de una saponificación con calcio de los ácidos grasos (jabón cálcico) (Palmquist et al, 1986). De la proteína dietaria que el animal ingiere, una proporción variable escapa de la fermentación ruminal y es digerida y utilizada directamente por el animal, otro porcentaje mayoritario es degradado en el rumen, por consiguiente, es necesario hacer aportes directos al sistema postruminal, de los aminoácidos

esenciales más limitantes al proceso de síntesis de proteínas en glándula mamaria y tejido muscular, como son metionina y lisina (Ansaldo- Gutiérrez, 2000).

Estos jabones cálcicos o en su defecto grasas sobrepasantes son metodologías que se usan por encima de metodologías como microencapsulación por varios factores que pueden ser económicos o por efectividad. Cada metodología tiene sus propias ventajas y desventajas por lo tanto cada una se debe basar en un objetivo y en las condiciones que presente cada investigación. Para este caso se eligió el jabón cálcico por su facilidad y por economía ya que la mayoría de sus ingredientes son de fácil acceso y también por su compatibilidad que hacen que interactúen con diferentes compuestos (Gutiérrez, J. B. 2000).

El jabón cálcico o grasa sobrepasante es una alternativa para que a través de este, los animales puedan cubrir sus requerimientos y tener mejores resultados productivos ya sea en carne o en leche, por lo tanto en esta investigación el jabón, se utilizó para proteger la lisina como aminoácido esencial y lograr que sobrepasara el rumen por medio de la protección y así pueda llegar al intestino del animal y pueda ser absorbida por el torrente sanguíneo y así obtener mejores resultados productivos. Por medio un proceso in vitro se determinó la dinámica de la solubilidad buscando la protección de la lisina en el jabón cálcico en las diferentes soluciones de pH.

Materiales y métodos

Localización

El experimento se desarrolló en la Universidad Católica de Oriente, ubicada en el municipio de Rionegro – Antioquia, con una Latitud: 06° 09' N Longitud: 75° 22' Altitud: 2125 m.s.n.m. El montaje y seguimiento del trabajo se evaluó bajo condiciones del laboratorio con una temperatura de $23^{\circ} \pm 2,0$ y una humedad de $62\% \pm 0,1$.

El experimento estuvo dividido en tres fases; la elaboración y estandarización de la grasa sobrepasante con lisina, la solubilidad del producto a diferentes pH y determinación de la capacidad de retención de la lisina como sobrepasante.

Fase 1. Elaboración de la grasa sobrepasante con lisina.

Para la elaboración de 500 gr de grasa sobrepasante se utilizaron los siguientes materiales: aceite de palma, carbonato de calcio, hidróxido de sodio, agua y HCl-Lisina. Se inició con un

precalentamiento del recipiente por un tiempo estimado de 5 minutos, seguidamente se añadió 296 gr de aceite de palma. A medida que el aceite se calentaba, y alcanzaba un punto de aparición de burbujas, se le añadieron 115 gr de carbonato de calcio disuelto en agua poco a poco. Cuando se completaron 15 minutos de mezclar el aceite con el calcio, se le agregaron 41 gr de soda cáustica acompañada de 250 ml de agua para finalizar la reacción. Se revolvió de forma continua por cinco (5) minutos hasta que el producto tomara forma viscosa y grumos sólidos. Luego se apagó el fuego y se continuó mezclando. Aproximadamente a los cuatro (4) minutos de quitar el fuego y antes del total endurecimiento de la mezcla se adicionó 90 gr de lisina. Posteriormente, se hizo un prensado con un cedazo asegurando que no queden restos líquidos, y luego dejándolo en reposo durante 3 días para su posterior rayado y empacado.

Fase II. Estudio de solubilidad in-vitro de la grasa sobrepasante.

Para la solubilidad se adecuaron seis (6) recipientes con 6000 ml de agua. Cada recipiente se le controló el pH hasta obtener los siguientes seis (6) tratamientos; (pH): (2,5), (3,5), (4,5), (5,5), (6,5) y (7,5). Para estabilizar el pH ácido se utilizó ácido clorhídrico (HCl) y para equilibrar el pH básico se utilizó hidróxido de sodio (NaOH). Con la ayuda de un Phmetro se controló la estabilidad del pH en el tiempo. Una vez estabilizado el pH, se utilizaron bolsas de nylon, con medidas de 10 x 10 cm y un tamaño de poro de 50 μm de diámetro y se dispuso en cada una de ellas un promedio $1,062 \pm 0,156$ g de grasa sobrepasante. Un total de 21 bolsas se utilizaron para cada tratamiento, para la obtención de tres repeticiones por hora (0, 2, 4, 12, 24, 36 y 48 horas). Para la inmersión de las bolsas estas fueron sujetadas a una cadena de acero en el orden de las horas, es decir, primero las de la hora dos (2) y finalizando con las de 48 horas, con la finalidad de no interrumpir la solubilización. Con fines de mantener constante el pH mientras las muestras estuvieran sumergidas en la solución se tomó el pH cada hora. A medida que las bolsas eran retiradas de la solución se ingresaban a secado en estufa de convección a T° constante de 65° durante 48 horas para su posterior pesaje y determinación de materia seca (MS).

Como se indica en el análisis estadístico más adelante, la dinámica de desaparición será analizada a partir de modelos y con estos modelos calcularán tres porciones para cada tratamiento de la siguiente manera:

a = intercepto con el eje Y en el tiempo cero. Esta representa el sustrato soluble y completamente degradable que sale rápidamente del saco de nylon.

b = la diferencia entre el intercepto (a) y la asíntota. Representa la fracción insoluble pero potencialmente degradable del sustrato.

$c = 1 - (a+b)$ = representa la fracción no soluble de la muestra.

Fase III. Análisis químico y bromatológico.

Con la finalidad de determinar si efectivamente la porción proteica (HCl-Lisina) es protegida por la grasa sobrepasante, se utilizó 2 beakers con 1200 ml de agua cada uno, en los cuales se evaluaron los pH más contrastantes; 2,5 y 7,5, respectivamente. A estos se les agregó directamente 220 gr de grasa sobrepasante y se dejaron por un periodo de tiempo de 48 horas, en los cuales se les tomaba el control de pH y se agitaban periódicamente con el fin de mantenerlos estabilizados. Luego de finalizar este proceso se filtraron con la ayuda de un cedazo con el objetivo de separar los restos líquidos de los sólidos. Los sólidos se sometieron a secado en estufa como se mencionó anteriormente. La fase sólida seca y la fase líquida fueron rotuladas y enviadas al laboratorio para determinar proteína bruta (PB) por el método de Kjeldahl (AOAC, 2005).

Análisis estadístico

Para el análisis de las variables correspondientes al % de desaparición/solubilidad, se evaluaron diferentes modelos no lineales (Tabla 1) y se determinó el mejor ajuste a partir del criterio de información Akaike (AIC) y coeficiente de correlación R^2 . La comparación entre tratamientos se hizo a partir del intervalo de confianza (IC) de los modelos seleccionados, interpretando que cuando los IC se traslapan no existen diferencias estadísticas. Se consideró un α de 0,05. Se utilizó el programa Past versión 4.1.

Tabla 1. Modelos evaluados para las curvas de desaparición de la materia seca de grasa sobrepasante con HCl-Lisina bajo diferentes pH.

Modelo	Ecuación	Autor
Lineal	$y = ax + b$	Nelder & Wedderburn
Cuadrático	$y = ax^2 + bx + c$	
Von Bertalanffy	$y = a * (1 - be^{-cx})$	Von Bertalanffy, Ludwig
Logístico	$y = \frac{a}{1+be^{cx}}$	Wright, Edward
Gomperzt	$y = a(b^{cx})$	Gompertz, Benjamin
Gaussiano	$y = ae - \frac{(x-b)^2}{2z}$	Gauss, Carl Friedrich
Exponencial	$y = a - (a * e(-c * x))$	

Resultados

Fase I. Elaboración de la grasa sobrepasante con lisina.

En la realización de la grasa sobrepasante con la adición de la lisina, después de utilizar todos los materiales y con las cantidades explicadas anteriormente, se obtuvo un producto al cual se le realizó un examen organoléptico con el fin de determinar las diferentes características como un color amarillo caramelo, un sabor amargo, con un olor a detergente, con una textura sólida, áspera y húmeda (Ilustración 1). Las características nutricionales calculadas esperadas son 59,2% de grasa, 23,2 de calcio y 18% de proteína.

Ilustración 1. Grasa sobrepasante con HCl-Lisina, producto finalizado y rayado.



Fase II. Estudio de solubilidad in vitro de la grasa sobrepasante.

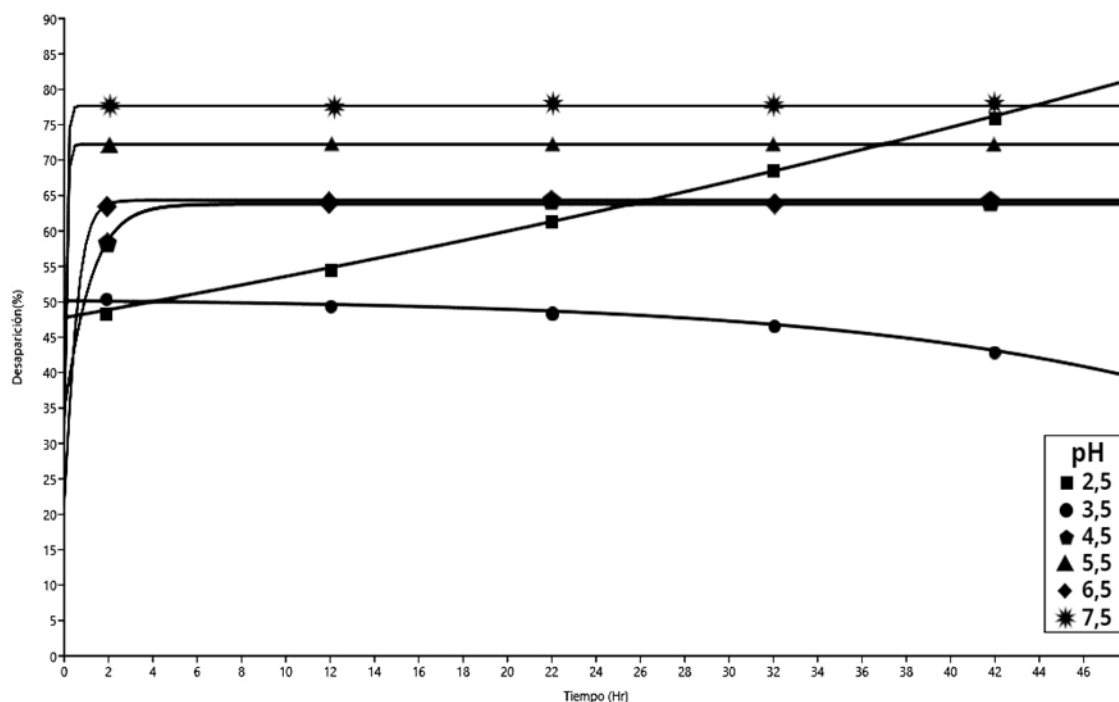
El modelo que obtuvo mejor ajuste fue el de Gompertz. En la Tabla 2 se muestran las ecuaciones halladas para cada pH con los respectivos AIC y R².

Tabla 2. Ecuaciones, AIC y R² para la dinámica de % de desaparición de la materia seca de grasa sobrepasante con HCl-Lisina bajo diferentes pH.

pH	Ecuaciones (Gompertz)	AIC	R²
7,5	$y=85,354*\exp(-0,92078*\exp(-1,3698x))$	81,88	0,99
6,5	$y=73,051*\exp(-1,2179*\exp(-1,0962x))$	299,94	0,94
5,5	$y=76,436*\exp(-0,92227*\exp(-18,72x))$	308,08	0,93
4,5	$y=67,238*\exp(-0,65251*\exp(-0,77179x))$	809,95	0,65
3,5	$y=79,1*\exp(-1,418*\exp(-0,84285x))$	39,47	0,99
2,5	$y=72,9*\exp(-0,64614*\exp(-0,65309x))$	148,69	0,91

AIC: criterio de información Akaike; R²: coeficiente de correlación.

En la gráfica 1, se evidencia la dinámica de desaparición de la MS por un periodo de 48 horas. En la Tabla 3, se describe la hora en que se alcanza el mayor valor de desaparición de la MS (asíntota) y los valores de a, b y c. Los tratamientos arrojaron valores diferentes con respecto al modelo utilizado en la investigación, por lo tanto, el parámetro “a” indica el valor máximo. Dado esto encontramos que para el pH 7,5 se alcanzó el valor máximo a la hora ocho (8) con un porcentaje de desaparición de 85,35 siendo el pH con el valor de desaparición más alto, a diferencia del pH 4,5 que obtiene el valor más bajo de desaparición con un 67,23% a las 14 horas. Los pH 6,5 y 2,5 obtienen un valor máximo de desaparición similar de 73,05% y 72,9% a las 11 y 17 horas, respectivamente. A su vez, para el pH 5,5 el valor máximo es de 76,43% a las 0,64 horas siendo el pH en alcanzar el valor más alto en menos tiempo. Por último, el pH 3,5 de tuvo una desaparición del 79,1% a las 14 horas. Entre las horas 4 y 12 los valores de desaparición se estabilizaron para los tratamientos, por consiguiente, y como se muestra en la Grafica 2, las comparaciones entre los diferentes pH se hicieron hasta la hora 4.



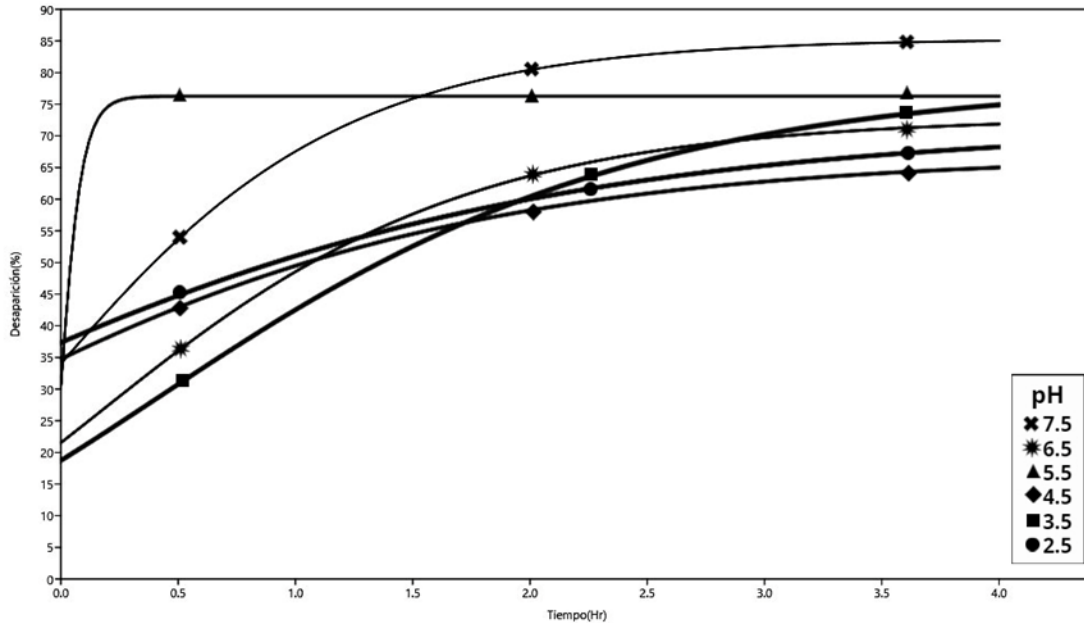
Gráfica 1. Dinámica del porcentaje de desaparición de la materia seca (MS) de grasa sobrepasante con HCl-Lisina bajo diferentes pH en 48 horas.

Tabla 3. Fracciones de la desaparición de la materia seca de grasa sobrepasante con HCl-Lisina bajo diferentes pH.

pH	Hora Máxima ¹	a	b	c
7,5	8,00	33,90	51,37	14,65
6,5	11,00	21,61	51,44	26,95
5,5	0,64	30,39	46,04	23,56
4,5	14,00	35,01	32,22	32,76
3,5	14,00	19,16	59,94	20,90
2,5	17,00	37,69	35,21	27,10

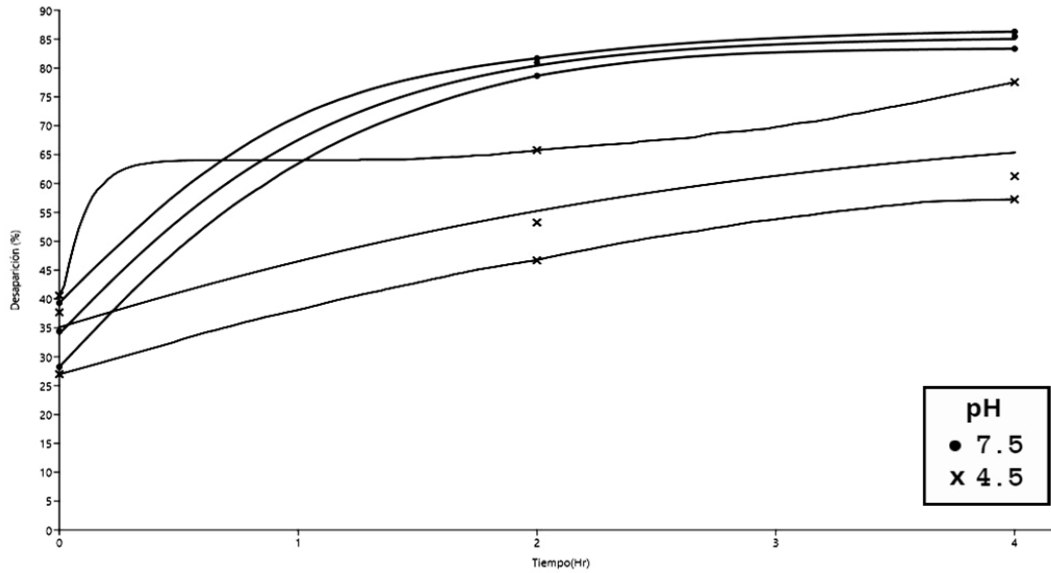
¹ hora para alcanzar el valor máximo de porcentaje de desaparición

a, intercepto con el eje Y en el tiempo cero. Esta representa el sustrato soluble y completamente degradable que sale rápidamente del saco de nylon; b, la diferencia entre el intercepto (a) y la asíntota. Representa la fracción insoluble pero potencialmente degradable del sustrato; c, 1- (a+b): representa la fracción no soluble de la muestra.



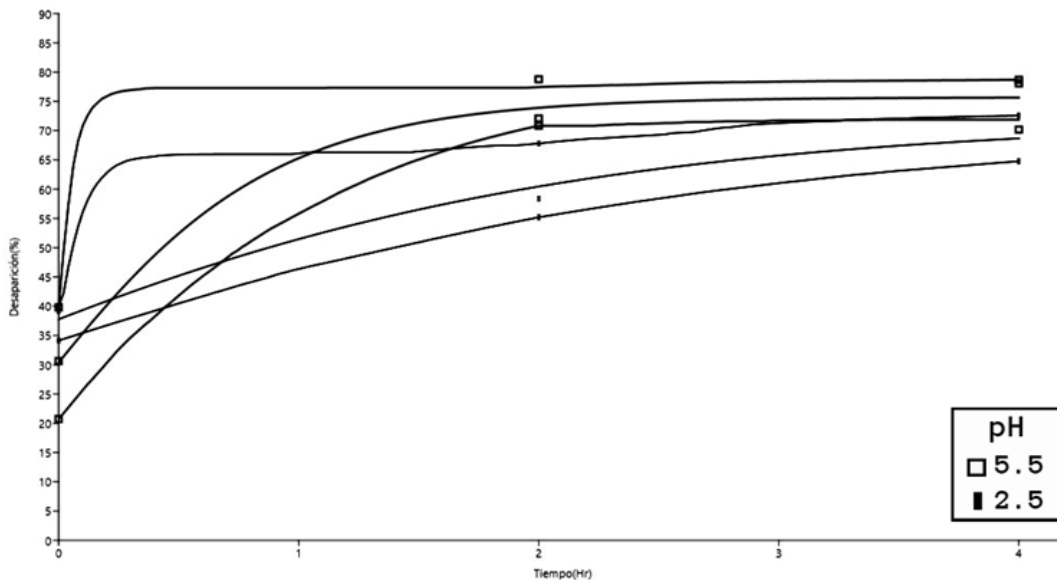
Gráfica 2. Dinámica de % de desaparición de la MS de grasa sobrepasante con HCl-Lisina bajo diferentes pH en 4 horas.

La gráfica 3 representa el porcentaje de desaparición de la grasa sobrepasante a un pH de 7,5 y 4,5, en función al periodo de tiempo utilizado, en el pH 7,5 se observó que para la hora 0 el porcentaje de desaparición es de 33,98 y el pH 4,5 fue 35,01%, en este tiempo tenemos que estadísticamente no se encontraron diferencias significativas hasta alcanzar la hora uno (1), en donde el pH 7,5 tiene una desaparición de 67,54% y el pH 4,5 una de 49,73%. Al analizar la hora cuatro (4) se encontró que la diferencia estadística se mantiene constante, ya que, los porcentajes de desaparición son de 85,03 para el pH 7,5 siendo este el valor más alto de desaparición y 65,26% para el pH 4,5 siendo el valor más bajo.



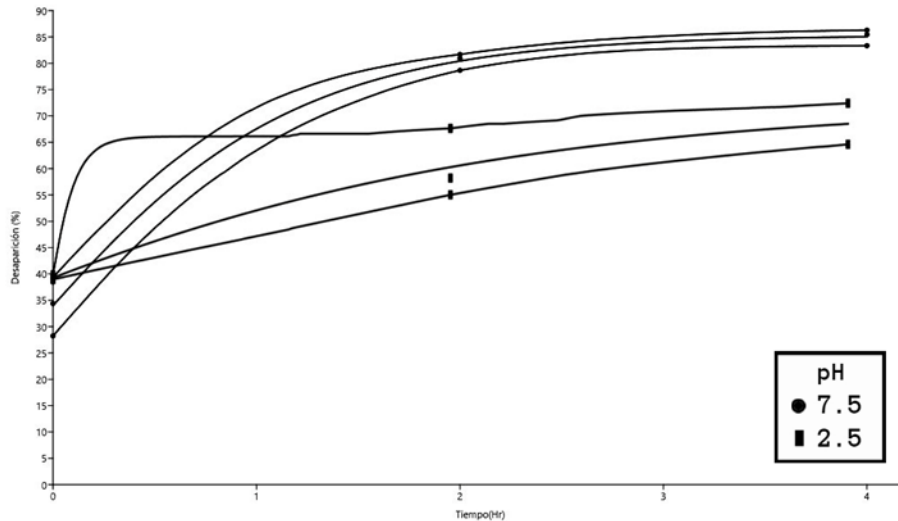
Gráfica 3. Comparación de la dinámica de desaparición entre el pH 7,5 y 4,5 en 4 horas.

La grafica 4 explica la dinámica de solubilidad del pH 5,5 este pH alcanzó su valor máximo de desaparición (76,43%) en el menor tiempo (0,64 horas). En comparación con el pH 2,5, el cual alcanza su valor máximo de 72,90% a las 17 horas, se encuentran diferencias estadísticas constantes desde la hora 1,5 hasta la hora 4 del estudio.



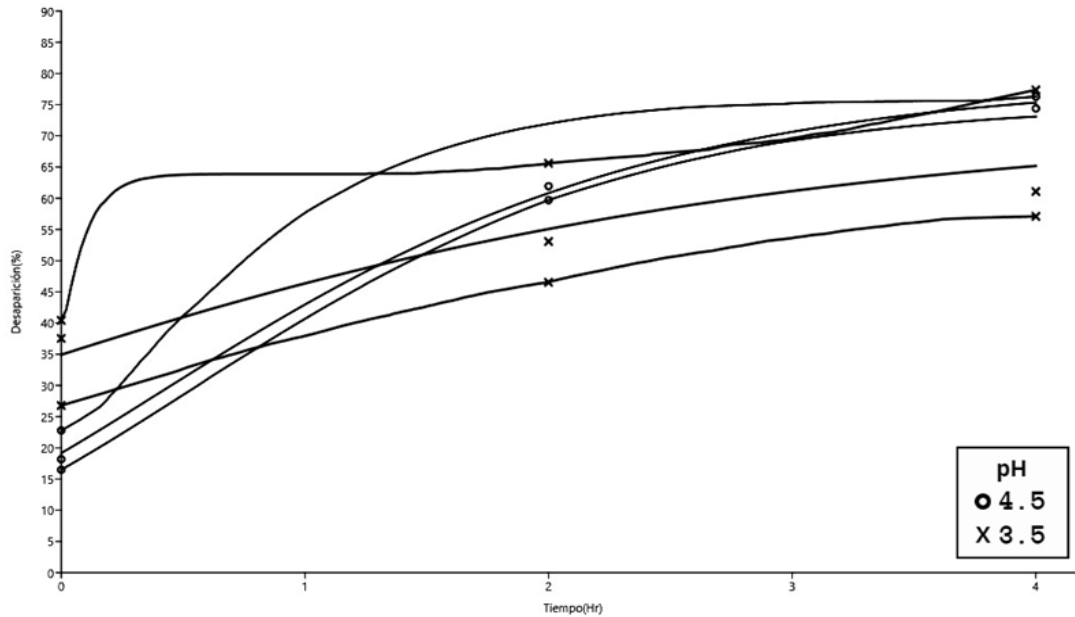
Gráfica 4. Comparación de la dinámica de desaparición entre el pH 5,5 y 2,5 en 4 horas.

La grafica 5 muestra el comportamiento de la solubilidad de la grasa sobrepasante al someterse a los diferentes grados de acides o alcalinidad. A la hora 0 el pH 7,5 tiene una desaparición de 33,98% y el pH 2,5 de 38,20%; estos valores no presentaron diferencias significativas hasta llegar a la hora dos (2). Para el pH 7,5 la desaparición fue de 89,42% mientras que para el pH 2,5 es de 61,19% desde la hora dos (2); a partir de este punto ambos pH son estadísticamente diferentes.



Gráfica 5. Comparación de la dinámica de desaparición entre el pH 7,5 y 2,5 en 4 horas.

La grafica 6 explica la dinámica de solubilidad de los pH que alcanzaron su máximo de desaparición a la hora 14, donde se presentaron diferencias estadísticas antes de alcanzar la hora 1, debido a que la desaparición en la hora 0 para el pH 4,5 es de 35,01% y para el pH 3,5 es de 19,15%. En la hora uno (1) los pH no presentaron grandes variaciones estabilizándose en 49,73% y 42,96%, respectivamente hasta alcanzar su valor máximo de solubilidad.



Gráfica 6. Comparación de la dinámica de desaparición entre el pH 4,5 y 3,5 en 4 horas.

Fase III. Análisis químico y bromatológico.

Al momento de contrastar los dos pH, 7,5 y 2,5 estos mostraron un comportamiento totalmente diferente. Para el pH 2,5 se evidenció una separación de la grasa sobrepasante en dos capas, una capa sólida con textura grasosa y esponjosa que se ubicó en la parte superior del recipiente y otra capa totalmente líquida en la parte inferior. En contraste, el pH 7,5 presentó la separación en 3 capas, una pequeña capa en la parte superior con textura grasosa, en la parte media una capa líquida turbia y en la parte inferior presentó una capa más sólida donde se evidenció la separación del calcio con el resto de los ingredientes y se precipitó.

El resultado final del análisis del cálculo de contenido de proteína cruda fue de <2.5 g/100 g para la parte sólida y líquida de los pH 2,5 y 7,5.



Ilustración 2. Contraste visual entre los pH 7,5 y 2,5 de la grasa sobrepasante con HCl-Lisina.

Discusión

Fase 1. Elaboración de la grasa sobrepasante con lisina.

Las grasas sobrepasantes se caracterizan por ser una fuente alta de energía la cual es requerida por los animales, por esto se han formulado diferentes métodos para realizarla. (Proaño et al 2015) evaluaron la saponificación de dos materias primas grasas, el cebo ovino de origen animal y residuos de aceite palma de origen vegetal a través de diferentes compuestos químicos: hidróxido de sodio, hidróxido de potasio e hidróxido de calcio encontrando diferencias entre estos. Para este caso se eligió el calcio para saponificar aceite de palma ya que según los investigadores se han obtenido mejores resultados con el aceite de palma y el calcio logrando diferentes beneficios donde no se afecta el metabolismo ruminal, es insoluble en el rumen, resisten la acción enzimática de los microorganismos y no afectan la digestión de la fibra. Para complementar proteicamente el jabón cálcico se le adicionó el aminoácido de la lisina para obtener mejores rendimientos y ganancias.

Según Cardona (2020) la lisina es un aminoácido esencial y también es un aminoácido hidrófilo, por lo tanto, no tiene afinidad con las grasas o los aceites vegetales. Para la elaboración de la grasa sobrepasante con lisina fue sometido a temperaturas mayores a 120°C lo cual provoca diferentes cambios en su estructura química como la desnaturalización, reacciones de Maillard y la pérdida

por degradación térmica (Kuklinski, 2003). Es por esto por lo que, para minimizar la pérdida de lisina durante el procesamiento, es común utilizar técnicas que optimicen las condiciones de temperatura y tiempo para preservar la calidad nutricional, además, se pueden emplear aditivos o tratamientos específicos para proteger y estabilizar la lisina durante el procesamiento térmico.

Así mismo como la temperatura, el pH puede tener un efecto significativo en la estabilidad y disponibilidad de la lisina, ya que al tener un aminoácido con un grupo amino (-NH₂) y un grupo carboxilo (-COOH), puede actuar como un ácido o una base dependiendo del pH del entorno en el que se encuentra, si se presenta en un pH básico la lisina es más estable y menos propensa a la degradación o reacciones químicas no deseadas ya que esta tiene una mayor solubilidad y disponibilidad para su absorción, por el contrario en un pH ácido la lisina es menos inestable y puede ser más susceptible a la degradación o reacciones químicas indeseables (Teijón, 2006). En general se considera que un pH neutro o ligeramente básico es óptimo para la estabilidad y disponibilidad de la lisina en la dieta de los animales, sin embargo, es importante tener en cuenta las interacciones complejas entre el pH y otros factores para garantizar una correcta formulación de las dietas y la preservación de la calidad nutricional de la lisina

Fase II. Estudio de solubilidad in vitro de la grasa sobrepasante.

Ansaldo Gutiérrez (2000) estudió la cinética de degradación de los aminoácidos lisina y metionina, utilizando la técnica de incubación de bolsas de nylon. Para ello utilizó novillos fistulados en los cuales se incubaron por tiempos secuenciales (0-2-4-8-24 y 48 horas) las bolsas conteniendo los aminoácidos protegidos y sin proteger. Cumplidos los tiempos de incubación de las bolsas, sus contenidos fueron retirados para su posterior análisis químico, con el fin de determinar el porcentaje de desaparición del aminoácido. Sin embargo, los resultados obtenidos no se ajustaron a la ecuación, concluyendo que tal técnica no es adecuada para elementos de tan alta solubilidad como son los aminoácidos en estudio.

Teniendo en cuenta los resultados del análisis in vitro de la grasa sobrepasante, Nozière & Michalet-Doreau (1996) afirman que la técnica de diálisis o difusión en bolsas de nylon no es la adecuada para medir la disponibilidad de productos solubles como la lisina u otros aminoácidos, ya que estos escapan de las bolsas de incubación independientemente de su degradación, por este motivo se sugieren otros métodos para este tipo de análisis como las mediciones plasmáticas de aminoácidos. Por el contrario, Villalobos et al., (2000) explica que esta técnica es adecuada para

medir la solubilidad de aminoácidos debido a la permeabilidad selectiva de la membrana de nylon, la cual permite la difusión de los aminoácidos mientras retiene otras moléculas más grandes. Sin embargo, es importante tener en cuenta que la solubilidad de los aminoácidos puede depender de otros factores.

De acuerdo con los resultados obtenidos, encontramos que el jabón cálcico en pH 7.5 tiene alta solubilidad debido a la formación de iones de hidroxilo (OH^-) en el agua. Mientras que en el pH 2.5 el jabón cálcico es insoluble en agua porque no hay suficientes iones hidróxido (OH^-) presentes para reaccionar con él y formar iones de calcio (Ca^{2+}). Es importante tener en cuenta que el carbonato de calcio puede reaccionar con ácidos fuertes para formar sales de calcio solubles en agua. Sin embargo, esto no implica que el carbonato de calcio sea soluble en sí mismo a pH 2.5. Pérez, (2017)

Por otra parte, la solubilidad de la grasa sobrepasante varía dependiendo de varios factores como la concentración de calcio y la concentración de ácidos grasos en general los jabones cálcicos son menos solubles en agua que los jabones de sodio o potasio, adicionalmente según Varó (2002) la solubilidad de los jabones cálcicos puede ser limitada especialmente en presencia de altas concentraciones de calcio debido a que los iones de calcio tienden a formar precipitados insolubles con los iones de ácidos grasos lo que reduce la solubilidad del jabón.

Fase III

Quitral et al., (2001) estudiaron el contenido de lisina disponible en diferentes tiempos de calentamiento a diferentes temperaturas donde encontraron que este aminoácido al ser sometido a altas temperaturas facilita el desplegamiento y disociación de proteínas produciéndose mayor exposición de grupos amino libres a la superficie molecular, pero al prolongar el calentamiento, las moléculas de proteína desplegada interactúan para formar agregados, bloqueando los grupos amino libres de lisina.

Por medio del método de Kjeldahl se determinó la proteína bruta donde no se encontró niveles detectables de proteína en las muestras realizadas. A partir de la literatura, se cree que debido a que las altas temperaturas llevaron al cetoácido de la lisina a separarse del grupo amino, llevando este grupo amino a convertirse en amonio lo que hizo que se volatizara por lo tanto el método de Kjeldahl no encontró nitrógeno y así mismo nula de presencia de lisina (Alaiz et al., 1992)

Conclusiones

La formulación de un jabón cálcico a partir de aceite de palma, carbonato de calcio, hidróxido de sodio y HCL-Lisina forma unas características físicas aptas para la molienda, almacenamiento y suministro de la grasa sobrepasante a los rumiantes.

No hubo una asociación directa sobre el comportamiento del porcentaje de desaparición en los pH cercanos a los valores del rumen (>5.5) y cercanos a los pH del abomaso (<5.5). Se esperaba que pH altos disminúan la desaparición y bajos la aumentaban. Sin embargo, el mayor % de desaparición fue el de pH 7,5, el menor el de 4,5. La mayor tasa de desaparición fue el pH de 5,5 y la menor tasa el de 3,5.

La adición de HCl-Lisina en la preparación de grasa sobrepasante bajo las condiciones del presente estudio no representó una estrategia para proteger la lisina del rumen. El proceso de preparación ya sea por el pH o temperatura desnaturalizó la lisina y no se detectó en el laboratorio por medio del método de kjeldahl.

La producción de grasa sobrepasante para suplir energía a los rumiantes sigue siendo una estrategia viable, sin embargo, la adición directa de lisina con fines de protegerla del rumen no funcionó bajo la metodología planteada.

Bibliografía

Alaiz, M., et al. 1992. Amino acid analysis by high-performance liquid chromatography after derivatization with diethyl ethoxymethylenemalonate. (Journal of Chromatography 591:181-186).

Ansaldó-Gutiérrez, C. G. (2000). Estudio de la cinética de degradación y metabolismo ruminal de dos aminoácidos sometidos a diferentes métodos de protección.

AOAC. Official Methods of Analyses of the Association of Official Agricultural Chemists (AOAC) 17th edition. AOAC International Suite 400, 2200 Wilson Boulevard, Arlington Virginia USA; 2000.

Cardona Serrate, F. (2020). Proteínas y aminoácidos en alimentos. Alteraciones.

Kuklinski, C. (2003). Nutrición y bromatología. Omega.

Nozière, P., & Michalet-Doreau, B. (1996). Validation of in sacco method: influence of sampling site, nylon bag or rumen contents, on fibrolytic activity of solid-associated microorganisms. *Animal feed science and technology*, 57(3), 203-210.

Palmquist, D.L., T.C. Jenkins and A.F. Jogner 1986. Effect of dietary fat and calcium source on insoluble soap formation in rumen. *J.Dairy. Sci.*69:1020

Pérez, M. F. P. (2017). Elaboración de jabón cálcico a partir de sebo de reses faenadas en la provincia cercado del departamento de tarija, para uso en alimento balanceado: Proyecto de Grado (Modalidad, Investigación Aplicada). Repositorio UAJMS.

Proaño, F., Stuart, J. R., Chongo, B., Flores, L., Herrera, M., Medina, Y., & Sarduy, L. (2015). Evaluación de tres métodos de saponificación en dos tipos de grasas como protección ante la degradación ruminal bovina. *Cuban Journal of Agricultural Science*, 49(1), 35-39.

Quitral, V., Abugoch, L., Vinagre, J., & Larraín, M. (2001). Efecto de tratamientos térmicos sobre el contenido de lisina disponible en carne de jaiba mora (*Homalaspis plana*). *Archivos latinoamericanos de nutrición*, 51(4), 382-385.

Teijón, J. M. (2006). *Fundamentos de bioquímica estructural*. Editorial Tébar.

Varó Galvañ, P. J. (2002). Contribución al estudio sobre el comportamiento ambiental y degradación de jabones.

Villalobos, C., González, E., & Ortega, J. A. (2000). Técnicas para estimar la degradación de proteína y materia orgánica en el rumen y su importancia en rumiantes en pastoreo. *Técnica pecuaria en México*, 38(2), 119-134.

Carulla, J., Cárdenas, E., Sánchez, N., & Riveros, C. (2004). Valor nutricional de los forrajes más usados en los sistemas de producción lechera especializada de la zona andina colombiana. Seminario Nacional de Lechería Especializada: "Bases Nutricionales y su Impacto en la Productividad". Medellín, septiembre, 1, 21-38.

Gutierrez, J. B. (2000). *Ciencia bromatológica: principios generales de los alimentos*. Ediciones Díaz de Santos.