

Tratamientos de protección de las proteínas frente a la degradación ruminal

Protein protection treatments against rumen degradation

Andres Haro ^(a), Marco Picón Saavedra ^(a), María José Andrade ^(b), Hugo Bautista ^(c), Andrea Vintimilla ^(a)

^(a) Universidad de Cuenca. Facultad de Ciencias Agropecuarias. 010107, Cuenca, Ecuador

^(b) Consultora independiente Milk and Meat. 060115, Riobamba, Ecuador

^(c) Kazán Federal University. 420008 Kazán, Rusia

Corresponding author: andresharo86@hotmail.com

Vol. 02, Issue 03 (2023): December

DOI:

<https://doi.org/10.53591/easi.v2i3.2557>

ISSN 2953-6634

Submitted: November 8, 2023

Revised: December 12, 2023

Accepted: December 15, 2023

Engineering and Applied

Sciences in Industry

University of Guayaquil. Ecuador

Frequency/Year: 2

Web:

revistas.ug.edu.ec/index.php/easi

Email:

easi-publication.industrial@ug.edu.ec

How to cite this article:

Haro, A. et al. (2023). Tratamientos de protección de las proteínas frente a la degradación ruminal. *EASI: Engineering and Applied Sciences in Industry*, 2(3),19-26. <https://doi.org/10.53591/easi.v2i3.2557>

Articles in journal repositories are freely open in digital form. Authors can reproduce and distribute the work on any non-commercial site and grant the journal the right of first publication with the work simultaneously licensed under a CC BY-NC-ND 4.0.

Abstract. Ruminant animals may exhibit low nitrogen utilization efficiency due to ammonia losses in the rumen. Moving the site of protein digestion from the rumen to the small intestine can enhance nitrogen efficiency. Therefore, protecting the protein from ruminal degradation through physical or chemical treatments is imperative. The objective of this review was to determine the commonly used protein protection treatments such as the application of physical and chemical methods. Physical, chemical treatments or their combination are justified by the application of feed sources with high-protein value and rapid degradability, to increase the usable protein fraction in the intestine by reducing its rumen degradability.

Keywords: protein protection, physical and chemical treatments, rumen degradability

Resumen. Los animales rumiantes pueden presentar una baja eficiencia de utilización del nitrógeno por pérdidas de amoníaco en el rumen, por ello, controlar la degradación de la proteína en el rumen para posterior aprovechamiento en el intestino delgado, podría mejorar la eficiencia nitrogenada. Por lo tanto, el objetivo de esta revisión fue determinar los tratamientos de protección de la proteína sobre la degradación ruminal mediante métodos físicos o químicos. Determinar las metodologías de protección comúnmente utilizados como la aplicación de tratamientos térmicos, formaldehídos, ácidos, alcoholes y taninos. Los tratamientos físicos, químicos o su combinación están justificados por la aplicación sobre fuentes alimenticias con alto valor proteico y rápida degradabilidad, para incrementar la fracción de proteína aprovechable en intestino por reducción de su degradabilidad ruminal.

Palabras claves: protección de proteínas, tratamientos físicos y químicos, degradabilidad ruminal

1. INTRODUCCIÓN

Los animales rumiantes pueden presentar baja eficiencia nitrogenada por pérdidas de amoníaco en el rumen, de modo que trasladar el sitio de digestión de la proteína del rumen al intestino delgado podría mejorar la eficiencia del nitrógeno y reducir la contaminación nitrogenada y gases de efecto invernadero por resultado de la menor fermentación ruminal y previsiblemente por generación de metano (Vanegas et al., 2016; Haro et al., 2020; Souza et al., 2022).

Consecuentemente, materias primas con alto valor proteico como proteínas de origen vegetal y alto contenido de proteína que varía entre el 20% a 50% son apetecidas para la formulación de dietas concentradas y complementarias en la alimentación de animales rumiantes (Barril-Cuadrado et al., 2013; Haro et al., 2021), no obstante, de estas proteínas, alrededor del 82% son fermentables en el rumen, lo que permite la inclusión de proteína no degradable, bypass o de digestión intestinal en la formulación del alimento (González et al., 1999). La protección de las proteínas de los alimentos proteicos tiene la finalidad de disminuir la degradabilidad ruminal de la proteína e incrementar su contenido en proteína no degradable en rumen y aprovechable en intestino (Mendowski et al., 2020; Haro et al., 2020).

Cuantiosos métodos se han investigado para disminuir la fermentación ruminal de los concentrados proteicos (Carro et al., 2006; Molosse et al., 2023; Taqwa et al., 2022), por ejemplo, la aplicación de calor (Taqwa et al., 2022; Yousefi et al., 2022), agentes químicos (Haro et al., 2020) o la combinación secuencial de ambos (Vanegas et al., 2016; Haro et al., 2020) ocasionan la desnaturalización de la proteína, la reducción de su solubilidad y su accesibilidad frente a la reducción de la degradación en el rumen. Por lo tanto, la inclusión de diversas tecnologías (Reynolds & Kristensen, 2008; Haro et al., 2019; Molosse et al., 2023) de procesamiento para aumentar la fracción de proteína bypass, fue el objetivo de esta revisión, a la necesidad de tratar las proteínas frente a la degradación ruminal.

2. TRATAMIENTOS DE PROTECCIÓN DE LAS PROTEÍNAS FRENTE A LA DEGRADACIÓN RUMINAL

Los rumiantes son capaces de utilizar una gran variedad de fuentes nitrogenadas gracias a la simbiosis con los microorganismos del rumen (Souza et al., 2022; Haro et al., 2020). De esta manera, pueden ser degradados desde compuestos nitrogenados con gran peso molecular y estructura compleja, como las proteínas animales; hasta compuestos simples de estructura sencilla, como urea y sales de amonio (Mejía y Mejía, 2007; Alvir, M., Remedios, M., Gonzalez, J., 2011); Souza et al., 2022). En función de su posible transformación, Haro et al. (2020) sostiene que en el rumen la proteína bruta (PB) de la dieta se divide en dos tipos, en proteínagradable en el rumen (PDR) y proteína no degradable en el rumen (PNDR) o proteína by-pass. La nutrición proteica de los animales rumiantes es en realidad un proceso doble, por un lado, conviene satisfacer las necesidades de los microorganismos en forma de PDR y por otro satisfacer el aporte de aminoácidos requerido por el animal, acción que se logra mediante la PNDR y la proteína microbiana sintetizada (Cochran et al., 1998; NRC, 1996; NRC, 2001; Rigon et al., 2023).

Las fuentes de proteína más utilizadas en la alimentación de los animales rumiantes provienen de origen animal (harinas de carne, plasma animal, hidrolizados de mucosa intestinal (Rostagno et al., 2011)) y origen vegetal (harina de soja, harina de girasol, proteína de trigo, gisantes, levadura de cerveza, ... (FEDNA, 2019)). Las fuentes proteicas más comúnmente utilizadas en Ecuador, Sudamérica y el mundo son los subproductos de la soja, la camelina, el girasol, los guisantes y levadura de cerveza (Díaz, 2016; FEDNA, 2019; Haro, 2019), por su alto valor proteico que oscila entre el 20 a 51 % de PB (Haro, 2019; FEDNA, 2019). Estas fuentes vegetales presentan contenidos en PDR que varían entre el 34 y el 90%, aunque la mayoría de estos contienen proporciones de PDR superiores a 65% de la proteína (FEDNA, 2019).

Por otro lado, las fuentes proteicas de origen animal con más inclusión en las raciones alimenticias para rumiantes son las harinas, generalmente son más resistentes a la degradación en el rumen sobre las de origen vegetal, además, tienen un alto contenido proteico (entre 42,5 y 85,0% de proteína), y son buena fuente de calcio y fósforo (FEDNA, 201; Mora-Maldonado et al., 2020). Sin embargo, la inclusión de harinas de origen animal (carne, sangre y pescado) en la alimentación de los rumiantes se encuentra prohibida por la Unión Europea a raíz de la aparición de la encefalopatía espongiiforme bovina, no obstante, el uso de estas fuentes proteicas en América y América Latina es exponencial, por su aporte de proteína ideal en dietas concentradas para animales rumiantes y no rumiantes (Balfagón y Ramoneda, 2001).

Entre los concentrados proteicos de uso común, el gluten meal de maíz es el alimento con mayor porcentaje de proteína, mientras que el guisante de primavera presenta el menor valor de esta fracción proteica (60,0 y 20,6 %, respectivamente). Las harinas de soja se encuentran en un rango de 42,1 a 48,5 % de proteína y son uno de los concentrados proteicos más ampliamente utilizados en la alimentación de rumiantes de alta producción debido a su elevada concentración en proteína de buena calidad (Clark et al., 1992; Díaz, 2016; Haro, 2019). En cuanto a la

degradabilidad de la proteína, es alta en los granos de cereales (entre 75 y 80%), media en la harina de soja (entre 60 y 65 %) y alta en los guisantes de primavera (hasta el 92%). La PDR proporciona una mezcla de péptidos, aminoácidos libres y amoníaco (NH_3) para la síntesis de proteína microbiana, que puede representar del 54 al 88% del total de N-aminoacídico que abandona el rumen (Clark et al., 1992; NRC, 2001; Molosse et al., 2023).

La administración de proteína verdadera (entre las más comunes: harinas de soja, girasol, guisantes, ...) tiende a más efectividad que el nitrógeno no proteico (NNP) al estímulo sobre el consumo de alimento y la digestión de forrajes (Koster et al., 1997; Cochran et al., 1998; Souza et al., 2022). Los compuestos NNP administrados en raciones alimenticias para animales rumiantes (urea y sus derivados o las sales de amonio) son degradados rápida y completamente en el rumen a $\text{NH}_3\text{-N}$ (Wallace et al., 1999; Alvir, M., Remedios, M., Gonzalez, J., 2011; Souza et al., 2022), consecuentemente, su uso debe ser realizado con cautela, ya que un exceso puede provocar una intoxicación por $\text{NH}_3\text{-N}$ (de Souza et al., 2023), por ello se recomienda que la administración de urea como suplemento, no supere el 1% de la materia seca de la ración alimenticia o el 25% del total del nitrógeno sobre la misma (FEDNA, 2019; Troyer et al., 2023).

Además, la utilización de compuestos NPN en la ración debe ir acompañada de la inclusión de una fuente de energía rápidamente disponible, de tal forma que pueda ser utilizada por los microorganismos ruminales (de Souza et al., 2023, Troyer et al., 2023). El exceso de $\text{NH}_3\text{-N}$ que no puede ser utilizado por los microorganismos debe ser transformado en urea en el hígado, con el consiguiente gasto energético del animal hospedero (Wallace et al., 1999; FEDNA, 2019; Molosse et al., 2023).

Consecuentemente, los aportes de proteína o aminoácidos al intestino delgado de los animales rumiantes deben corresponder al conjunto de la proteína microbiana sintetizada en el rumen, la proteína del alimento que no fue degradada en este y la proteína endógena (Haro et al., 2022; Molosse et al., 2023). Equilibrar estos aportes dependerá del tratamiento y naturaleza de las proteínas del alimento, por lo tanto, la protección de los nutrientes como las proteínas de los alimentos proteicos tiene la finalidad de disminuir la degradabilidad ruminal de la proteína e incrementar su contenido en proteína no degradable en rumen y su aprovechable en intestino (Haro et al., 2019; Mendowski et al., 2020).

Numerosas metodologías se han investigado para disminuir la fermentación ruminal de los concentrados proteicos. La aplicación de calor (Taqwa et al., 2022), agentes químicos (Carro et al., 2006) o la combinación secuencial de ambos (Vanegas et al., 2016, Haro et al., 2020) y la microencapsulación (Sahraei et al., 2019) pueden ocasionar la desnaturalización de la proteína, la reducción de su solubilidad y su accesibilidad frente a la reducción de la degradación en el rumen. Por lo tanto, la inclusión de diversas tecnologías de procesamiento para aumentar la fracción de proteína bypass favorece la protección de la proteína frente a la degradación ruminal (Reynolds & Kristensen, 2008; Haro et al., 2019; Molosse et al., 2023).

2.1. Métodos físicos y químicos de protección de fuentes de proteína

Durante los últimos años se han establecido diferentes métodos físicos y químicos para proteger la proteína y disminuir la fermentación ruminal de los compuestos proteicos (Tabla 1). Estos métodos se basan en la aplicación de agentes químicos y calor o la combinación de ambos (Díaz, 2016; Haro, 2019; Haro et al., 2019a) que alteran las características de la proteína e incrementan su resistencia a las enzimas proteolíticas (González et al., 1999).

Se han utilizado diversas tecnologías físicas de procesamiento de las materias primas, la más utilizada es la protección por temperatura o calor, que da lugar a la alteración de su estructura tridimensional por disolución de enlaces peptídicos (Haro, 2019; Taqwa et al., 2022). El incremento de temperatura que experimentan las fuentes de proteína vegetal y animal como harinas de semillas oleaginosas o las de carne y pescado, durante su tratamiento térmico ocasiona la desnaturalización de la proteína rompiendo los puentes de hidrógeno y enlaces disulfuro responsables de su estructura secundaria, además, reducen su solubilidad y su accesibilidad frente a la degradación en el rumen (Blanchart et al., 1998; Ouarti et al., 2006; Haro et al., 2021; Taqwa et al., 2022).

El tratamiento térmico, por otro lado, favorece las reacciones de condensación entre los grupos aldehídos de los azúcares y los grupos aminos libres de la proteína, no obstante, un prolongado tratamiento térmico (conocido como daño por calor) produce reacciones de Maillard que implican la degradación de los azúcares a compuestos fenólicos, siendo los compuestos resultantes indigestibles para el animal hospedero, lo que reduce la disponibilidad de proteína y azúcar para el rumiante (Van Soest PJ, 1994; Haro, 2019; Mendowski et al., 2020). Durante la fabricación de las harinas de origen animal, en situaciones de baja humedad y la autooxidación, el calor utilizado para el secado final de la harina y para su almacenamiento, favorece a la producción de reacción de Maillard entre los aminoácidos y los productos de la oxidación del aceite (González et al., 1999; Haro et al., 2021).

Los tratamientos previos o procesados térmicos a los que son sometidos la mayoría de semillas crudas y harinas de animales, antes de su utilización como fuentes proteicas en los rumiantes, no tienen un tratamiento térmico

posterior, por ello, realizar un tratamiento térmico entre 120 y 155 °C, durante un máximo de 2.5 h, en general, reduce la degradabilidad ruminal de la proteína, ya que implica trasladar el sitio de digestión del rumen al intestino delgado, donde puede ser utilizada como fuente complementaria de la proteína microbiana (Reynolds & Kristensen, 2008; Haro et al., 2019; Molosse et al., 2023). Algunos estudios que utilizan el método de los tratamientos térmicos sobre la proteína de habas, soja, girasol, guisantes y harinas de carne, pescado y sangre, reafirman que la extrusión y la inclusión de temperatura hasta 155 °C (tiempo promedio de 2 h de exposición térmica) mejora la utilización de proteínas en animales rumiantes (Arroyo et al., 2013, Vanegas et al., 2016, Mendowski et al., 2020; Haro et al., 2021; Taqwa et al., 2022).

La inclusión de formaldehídos, ácidos, alcoholes, taninos, son parte de las numerosas técnicas químicas estudiadas para disminuir la degradabilidad de las materias primas con altas concentraciones de proteína (Carro et al., 2006; Haro, 2019; Molosse et al., 2023). Estos procedimientos químicos han sido utilizados con el objetivo de disminuir la degradabilidad de la proteína en el rumen. En el pasado, los más empleados fueron, el formaldehído que provoca una reducción de la solubilidad y la degradación de la proteína como consecuencia de su reacción con los grupos amino de la proteína (Carro et al., 2006). Sin embargo, el uso de formaldehídos como tratamiento químico fue prohibido por las directivas de la Unión Europea, a diferencia de otros países como América Latina que mantiene la inclusión como tratamiento sobre proteínas (Walker et al., 2005; González, 2019).

Por otro lado, los ácidos y alcoholes alteran la estructura de la proteína hasta la desnaturalización, dificultando el ataque de las enzimas proteolíticas en el rumen, a diferencia del tratamiento de las proteínas con taninos que provocan la protección del nutriente sin modificar su estructura, conocido como el complejo tanino-proteína estable a pH ruminal entre 3,5 y 8,0 potenciando el establecimiento de enlaces químicos para evitar la degradación ruminal, posteriormente, es disociado el complejo tanino-proteína cuando llega al abomaso y duodeno (Patra y Saxena, 2011; Gouda et al., 2022; Molosse et al., 2023).

La aplicación del tratamiento de protección de las proteínas con ácidos establece otro procedimiento, determinado sobre la desnaturalización de la proteína, dificultando el ataque enzimático de los microorganismos del rumen, incluso a un pH ruminal moderadamente bajo (Haro, 2019; Molosse et al., 2023). De la misma forma, los ácidos ejercen efectos antimicrobianos, reduciendo la colonización microbiana de los alimentos. En las últimas décadas el interés por los tratamientos con ácidos (ácidos dicarboxílicos málico y fumárico) es insistente, debido a su carácter promotor de crecimiento microbiano, (Nisbet y Martin, 1993, Carro et al., 2006). Estudios *in vitro* han demostrado (Lopez et al., 1999; Carro et al., 2006) que la inclusión de malato o fumarato como ácidos o sus sales favorecen la captación y metabolización del ácido láctico, igualmente, reduce la concentración de metano.

Por otro lado, investigadores utilizaron ácido málico como aditivo en dietas para terneros observando efectos positivos en la producción de ácido propiónico, ácido butírico y demostraron incrementos de los parámetros productivos (Gómez et al., 2007; Carro et al., 2006; Gouda et al., 2022). No obstante, últimamente existe más interés por el uso de ácidos di-o-tricarboxílicos como alternativa a los antibióticos promotores del crecimiento en animales rumiantes, siendo el ácido málico el más utilizado entre ellos y limitado por su costo. La principal ventaja para el uso del ácido málico en el tratamiento químico de proteínas es su alta solubilidad en agua y sus inconvenientes principales son el costo elevado y su poder de corrosión (Díaz, 2016; Haro et al., 2020).

Tabla 1. Tratamiento de protección de las proteínas

Método de protección	Actividad	Investigadores
Físico	Altera la estructura tridimensional de las proteínas sin disolución de enlaces peptídicos	Haro et al., 2021 Taqwa et al., 2022 Yousefi et al., 2022
Químico	Altera la estructura de la proteína por desnaturalización	Carro et al., 2006 Haro, 2019 Molosse et al., 2023
Mixto (químico+físico)	Provoca reacciones de pardeamiento no enzimático o de Maillard controladas entre grupos amino de las proteínas y grupos aldehídos de los azúcares	Díaz-Royón et al. 2015 Vanegas et al., 2016 Haro et al., 2020 Haro et al., 2021
Encapsulación	Recubre las proteínas con una matriz homogénea o heterogénea para crear pequeñas cápsulas insoluble en el rumen y solubles en abomaso	Sahraei et al., 2019 Wei et al., 2022

2.2. Combinación de métodos físicos y químicos para la protección de fuentes de proteína

Los resultados son positivos al combinar los tratamientos físicos y químicos, esta mezcla entre el ácido málico y calor es muy eficaz para proteger la proteína contra la degradación ruminal reduciendo las desventajas que se podrían producir al utilizar los métodos por separado (Vanegas et al., 2016, Haro et al., 2020, Haro et al., 2021). El tratamiento de protección tiene que ser eficaz y permitir liberar más aminoácidos esenciales a nivel intestinal, sin reducir la síntesis microbiana ruminal. Pero el sobrecalentamiento o el uso excesivo de un tratamiento químico pueden tener efectos nocivos sobre la degradación ruminal y sobre la digestibilidad intestinal (Broderick et al., 1991, Van Soest PJ, 1994). Por otro lado, los niveles de protección dependen del tipo de ácido utilizado, de la dosis, la dilución, la temperatura y tiempo de secado (Ouarti et al., 2006, Van Soest PJ, 1994).

Aplicaciones de los métodos como los utilizados por Arroyo et al. (2013) observaron que tratar la harina de girasol con ácido málico a diferentes concentraciones y temperaturas incrementa el contenido de proteína no degradable en el ruminal en comparación con la harina de girasol sin tratar, Haro et al. (2021) corroboró este suceso, argumentando que los niveles de protección alcanzados dependen del tipo de ácido, la dosis de ácido y su dilución, y la temperatura de secado. Igualmente, Arroyo et al. (2013), observaron que al tratar una harina de girasol con soluciones 2N de ácido málico u ortofosfórico combinado con un calentamiento subsiguiente a 150 °C durante 6 h, el contenido en proteína no digerible en el rumen y la digestibilidad intestinal se incrementaron.

Al mismo tiempo, Díaz-Royón et al. (2015) sugirieron que la combinación de ácidos (málico u ortofosfórico) y calor para tratar harina de girasol y guisante de primavera redujo su degradación ruminal, desplazando el lugar de la digestión al intestino delgado. En estudios similares de Vanegas et al. (2016) y Haro et al. (2019), también observaron efectos positivos en el tratamiento de la harina y la semilla de girasol tratadas con una solución de ácido málico 1 M y calor, indicando que este tratamiento es eficaz para proteger sus proteínas altamente degradables.

Los tratamientos aplicados a la harina de girasol por Arroyo et al. (2011), Díaz-Royón et al. (2015), Vanegas et al. (2016), Haro et al. (2019) y Haro et al. (2021) tienen claros efectos positivos, por lo tanto, los tratamientos combinados de ácido y calor son altamente efectivos para proteger la proteína del alimento y otras materias primas vegetales de la degradación ruminal, pero el efecto puede variar en función de la temperatura aplicada y la duración del tratamiento térmico (Haro et al., 2019, Haro et al., 2021). Además, el ácido málico añadido en el tratamiento también puede tener un efecto beneficioso sobre la fermentación ruminal como ya se ha indicado.

Consecuentemente, los estudios de Vanegas et al. (2016) se realizaron en condiciones *in vitro*, por lo que son necesarios estudios *in vivo* que validen estos resultados. Estudios *in vitro*, *in situ* e *in vivo* realizados por Haro et al. (2019) y Haro et al. (2021) observaron efectos positivos en el tratamiento de la harina, la semilla de girasol y la combinación de ambas, tratadas con una solución de ácido málico 1 M y calor, indicando que este tratamiento es eficaz para proteger sus proteínas altamente degradables, sin afectar los parámetros productivos en corderos de engorde.

CONCLUSIONES

La protección de proteínas favorece el mejor aprovechamiento del nutriente vinculado con los rendimientos productivos de los animales rumiantes, dependiendo de la eficacia del método de procesamiento y el alimento utilizado. Por lo tanto, trasladar el sitio de digestión de proteínas del rumen al intestino son fundamentalmente la gestión de protección del nutriente, consecuentemente, el empleo de tratamientos físicos, químicos o su combinación están justificados sobre materias primas con alto valor proteico y elevada degradabilidad, en virtud, son altamente efectivos para proteger la proteína de la degradación ruminal y brindar un mayor aporte de proteína al intestino.

Agradecimientos

A la Universidad de Cuenca y a la Consultora Internacional Milk and Meat por su aporte compartiendo el conocimiento ganadero.

Declaración de conflictos de interés

“El manuscrito fue preparado y revisado con la participación de todos los autores, quienes declaramos que no existe ningún conflicto de intereses que ponga en riesgo la validez de los resultados presentados.”

REFERENCIAS

- Alvir, M., Remedios, M., Gonzalez, J. (2011). *Efectos del tratamiento con ácido fosfórico y calor sobre el aprovechamiento ruminal e intestinal del guisante de primavera*. XIV Jornadas sobre Producción Animal AIDA, pp. 204-206. <https://oa.upm.es/12565/>
- Arroyo, J.M., González, J., Muñoz, J., Alvir, M.R., Rodríguez, C.A., Ibáñez, M.A., del Castillo MD. (2011). In vitro efficiency of combined acid-heat treatments for protecting sunflower meal proteins against ruminal degradation. *Animal*. 5, 1188–1194. <https://doi.org/10.1017/S1751731111000279>
- Arroyo, J.M., González, J., Ouarti, M., Silván, J.M., del Castillo, M.R., de la Peña F. (2013). Malic acid or orthophosphoric acid-heat treatments for protecting sunflower (*Helianthus annuus*) meal proteins against ruminal degradation and increasing intestinal amino acid supply. *Animal*. 7(2). 223-231. <https://doi.org/10.1017/S1751731112001292>
- Balfagón, P.J., Ramoneda, M. (2001). La encefalopatía espongiforme bovina: un problema de salud pública que genera alarma social. *Enfermedades Emergentes*. 3, 78-87. <http://enfermedadesemergentes.com/articulos/a91/s-3-2-004.pdf>
- Barril-Cuadrado, G., Puchulu, M.B., Sánchez-Tomero, J.A. (2013). Tablas de ratio fósforo/proteína de alimentos para población española. Utilidad en la enfermedad renal crónica. *Nefrología (Madrid)*. 33(3) 0-375. <https://doi.org/10.3265/Nefrología.pre2013.Feb.11918>
- Blanchart, G. (1988). *Dégradation des matières azotées d'origine végétale chez le ruminant: explication et prévision à partir d'un fractionnement* (Doctoral dissertation, Vandoeuvre-les-Nancy, INPL). <https://www.theses.fr/1988NAN10341>
- Broderick, G.A., Wallace, R.J., Ørskov, E.R. (1991). Control of Rate and Extent of Protein Degradation. In: T. Tsuda, Y. Sasaki y R. Kawashima (Eds.). *Physiological Aspects of Digestion and Metabolism in Ruminants*, (p. 541-594). Academic Press. New York, USA
- Carro, M.D., Ranilla, M.J., Giráldez, F.J., Mantecón, A.R. (2006). Effects of malate on diet digestibility, microbial protein synthesis, plasma metabolites, and performance of growing lambs fed a high-concentrate diet. *Journal Animal Science*, 84: 405-410. <https://doi.org/10.2527/2006.842405x>
- Cochran, R., Koster, H., Olson, K., Heldt, J., Mathis, C., Woods, B. (1998). Supplemental protein sources for grazing beef cattle, Proc. 9th Annual Florida Ruminant Nutrition Symposium, University of Florida, Gainesville. 123 – 136.
- Clark, J.H., Klusmeyer, T.H., Cameron, M.R. (1992). Microbial protein synthesis and flows of nitrogen fractions to the duodenum of dairy Cows1. *Journal of Dairy Science*, 75(8), 2304-2323. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(92\)77992-2](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(92)77992-2)
- De Souza, B.H., Pontes, R.M., da Silva, A.A.A., de Carvalho, E.L., de Oliveira, E.F., da Silva, D., ... Soares, P.C. (2023). Sugarcane yeast with urea in replace of soybean meal in the diet of Murrah buffaloes does not cause metabolic, endocrine, and mineral disorders. *Tropical Animal Health and Production*, 55, <https://doi.org/10.1007/s11250-023-03452-3>
- Díaz Royon F. (2016). Potenciación de la respuesta productiva en rumiantes mediante el empleo de proteínas protegidas (Doctoral dissertation, Agrónomos). Universidad Politécnica de Madrid. <https://doi.org/10.20868/UPM.thesis.39299>
- Díaz-Royón, F., Arroyo, J.M., Sánchez-Yélamo, M.D., González, J. (2015). Sunflower meal and spring pea ruminal degradation protection using malic acid or orthophosphoric acid-heat treatments. *Animal Production Science*. 56(12), 2029-2038. <https://doi.org/10.1071/AN14669>
- FEDNA. (2013, octubre 20). Tablas FEDNA de composición y valor nutritivo de alimentos para la fabricación de piensos compuestos. En: C. de Blas, G.G. Mateos y P. García- Rebollar (Eds), *Fundación Española para la Nutrición Animal*. Madrid, España. Disponible en: <https://www.fundacionfedna.org/ingredientes-para-piensos>
- Gómez, J.A., Tejido, M.L., Carro, M.D. (2007). Influence of disodium malate on microbial growth and fermentation in rumen-simulation technique fermenters receiving medium-and high-concentrate diets. *Br. J. Nutr*, 93(4), 479-484. <https://doi.org/10.1079/BJN20041367>
- González, J. Sánchez, L. Alvir, M.R. (1999). Estimation of intestinal digestibility of undegraded sunflower meal protein from nylon bag measurements. A mathematical model. *Reprod Nutr Devel*. 39, 607-616. https://rmd.edpsciences.org/articles/rmd/pdf/1999/05/RND_0926-5287_1999_39_5-6_ART0007.pdf
- González, G. (2019). Uso de harinas de insectos en la alimentación de rumiantes: Valoración proteica y tratamiento con taninos. Tesis de Maestría, Universidad de Zaragoza. <http://hdl.handle.net/10261/191764>

- Gouda, G.A., Kholif, A.E., Hamdon, H.A., Kassab, A.Y., Patra, A.K. (2022). Utilization of waste date palm leaves biomass ensiled with malic or lactic acids in diets of Farafra ewes under tropical conditions. *Animal*. 12(11), 1432. <https://doi.org/10.3390/ani12111432>
- Haro, A.N. (2019). Control of protein degradation in the rumen for improving protein efficiency and reducing polluting emissions (Doctoral dissertation, Agronomica). Universidad Politécnica de Madrid. <https://doi.org/10.20868/UPM.thesis.57432>
- Haro, A.N., de Evan, T., Díaz, M.T., de la Fuente, J., González, J., Carro, M.D. (2020). Influence of feeding sunflower products protected against rumen degradation on carcass characteristics and meat composition and fatty acid profile in growing lambs. *Animals*, 10(3), 487. <https://doi.org/10.3390/ani10030487>
- Haro, A.N., Gonzalez, J., de Evan, T., Carro, M.D (2019a). Influencia de la protección de la proteína de girasol en la fermentación ruminal y cecal de corderos de cebo. XVIII Jornadas sobre Producción Animal, 146-148. <https://www.aida-itea.org/index.php/jornadas-aida/comunicaciones>
- Haro, A.N., Gonzalez, J., de Evan, T., de la Fuente, J., Carro, M.D. (2019). Effects of Feeding Rumen-Protected Sunflower Seed and Meal Protein on Feed Intake, Diet Digestibility, Ruminal, Cecal Fermentation, and Growth Performance of Lambs. *Animals*. 9(7), 415. <https://doi.org/10.3390/ani9070415>
- Haro, A.N., Carro, M.D., de Evan, T., González, J. Influence of feeding sunflower seed and meal protected against ruminal fermentation on ruminal fermentation, bacterial composition and in situ degradability in sheep. *Ar. Anim. Nutr.*, 74(5), 380-396. <https://doi.org/10.1080/1745039X.2020.1756679>
- Koster, H., Cochran, R., Titgemeyer, E., Vanzant, E., Nagaraja, T., Kreikemeier, K., Jean G. (1997). Effect of increasing proportion of supplemental nitrogen from urea on intake and utilization of low-quality, tallgrass-prairie forage by beef steers. *Journal of Animal Science*. 75(5), 1393 – 1399. <https://doi.org/10.2527/1997.7551393x>
- Lopez, S., Valdes, C., Newbold, C.J., Wallace, R.J. (1999). Influence of sodium fumarate addition on rumen fermentation in vitro. *British Journal of Nutrition*. 81(1), 59-64. <https://doi.org/10.1017/S000711459900015X>
- Mendowski, S., Chapoutot, P., Chesneau, G., Ferlay, A., Enjalbert, F., Cantalapiedra-Hijar, G., ... Noziere, P. (2020). Effects of pretreatment with reducing sugars or an enzymatic cocktail before extrusion of fava bean on nitrogen metabolism and performance of dairy cows. *Journal of Dairy Science*. 103(1), 396-409. <https://doi.org/10.3168/jds.2019-17286>
- Mejía, J., Mejía, I. (2007). Nutrición proteica de bovinos productores de carne en pastoreo. *Acta Universitaria*, 17(2). <https://doi.org/10.15174/au.2007.180>
- Kolar, S., Jurić, S., Vlahoviček-Kahlina, K., Vinceković, M. (2020). Potential for application of feed additives encapsulation technology in animal nutrition. *Krmiva: Časopis o hranidbi životinja, proizvodnji i tehnologiji krme*. 62(1), 57-66. <https://doi.org/10.33128/k.62.1.6>
- Molosse, V.L., Pereira, D.A., Rigon, F., Loregian, K.E., Magnani, E., Marcondes, M.I., ... Paula, E.M. (2023). Use of Heating Methods and Xylose to Increase Rumen Undegradable Protein of Alternative Protein Sources: 2) Cottonseed Meal. *Animal*. 13(1): 41. <https://doi.org/10.3390/ani13010041>
- Mora-Maldonado, L.E., Maldonado-Santoyo, M., Padilla-Rizo, B., Estrada-Monje, A., Sánchez-Olivares, G., Segoviano-Garfias, J.J. (2020). Reciclado de subproductos de origen animal: Composición y valor nutritivo del pelo bovino hidrolizado hidrotérmicamente. *Revista de Ciencias Ambientales*, 54(2): 92-110. <http://dx.doi.org/10.15359/rca.54-2.5>
- Nisbet, D.J., Martin, S.A. (1993). Effects of fumarate, l-malate, and an *Aspergillus oryzae* fermentation extract on lactate Utilization by the ruminal bacterium *Selenomonas ruminantium*. *Curr Microbiol.*, 26, 133-136. <https://doi.org/10.1007/BF01577366>
- NRC. (1996). Nutrient requirements of beef cattle (2th edn.). National Academy Press, Washington, D.C. Orskov, E.R., 1992. Protein nutrition of ruminants (2nd edn.). Academic Press, London, pp. 175.
- NRC. (2001). Nutrient Requirement of Dairy Cattle. (7th Rev. Ed). National Academic Press, National Research Council. Washington DC.
- Ouarti, M., González, J., Fernandes, L.F.J., Alvir, M.R., Rodríguez, C.A. (2006). Malic acid combined with heat treatment to protect protein from soybean meal against rumen degradation. *Animal Research*, 55(3), 165-175. <https://doi.org/10.1051/animres:2006014>
- Patra, A. K., & Saxena, J. (2011). Exploitation of dietary tannins to improve rumen metabolism and ruminant nutrition. *JSFA*, 91(1), 2437. <https://doi.org/10.1002/jsfa.4152>
- Rigon, F., Pereira, D.A., Loregian, K.E., Magnani, E., Marcondes, M.I., Branco, R.H., ... Paula, E.M. (2023). Use of Heating Methods and Xylose to Increase Rumen Undegradable Protein of Alternative Protein Sources: 1) Peanut Meal. *Animal*. 13(1): 23. <https://doi.org/10.3390/ani13010023>

- Reynolds, C.K., Kristensen, N.B. (2008). Nitrogen recycling through the gut and the nitrogen economy of ruminants: an asynchronous symbiosis. *Journal of Animal Science*, 86(14), E293-E305. <https://doi.org/10.2527/jas.2007-0475>
- Rostagno, H.S., Albino, L.F.T., Donzele, J.L., Gomes, P.C., Oliveira, R.F., Lopes, D.C., Ferreira, A.S., Barreto, S.L.T. and Euclides, R.F. (2011) Tabelas Brasileiras para Aves e Suínos: Composição de alimentos e exigências nutricionais. 3rd Edition, Ed UFV, Viçosa, 252 p.
- Sahraei Belverdy, M., Alamouti, A.A., Khadem, A.A., González, J., Carro, M.D., Kianmehr, M.H., Azizi, M.H. (2019). Encapsulation of soybean meal with fats enriched in palmitic and stearic acids: effects on rumen-undegraded protein and in vitro intestinal digestibility. *Archives of animal nutrition*. 73(2), 158-169. <https://doi.org/10.1080/1745039X.2019.1575657>
- Souza, M.G.D., Reis, I.A., Carvalho, I.P.C.D., Porcionato, M.A.D.F., Prados, L.F., Granja-Salcedo, Y.T., ... Resende, F.D.D. (2022). Effects of Post-Ruminal Urea Supplementation during the Seasonal Period on Performance and Rumen Microbiome of Rearing Grazing Nellore Cattle. *Animal*. 12(24): 3463. <https://doi.org/10.3390/ani12243463>
- Taqwa, M.I.K., Bachruddin, Z., Yusiati, L.M., Umami, N., Muhlisin, M. (2022). Lactic Acid Bacterial Fermentation Feed as Basal Ration: Addition Effect of Protein and Carbohydrate Protection on Rumen Fermentation of Bligon Goat. In 9th International Seminar on Tropical Animal Production (ISTAP 2021), pp. 79-87, Atlantis Press. <https://doi.org/10.2991/absr.k.220207.017>
- Troyer, B.C., Dennis, E.J., DiCostanzo, A., Erickson, G.E. (2023). Pooled analysis on the effects of inclusion, moisture, and oil removal from distillers grains on cattle performance and economic returns in diets with different corn processing. *Journal of Animal Science*. 101. <https://doi.org/10.1093/jas/skac358>
- Vanegas, J.L., Carro, M.D., Alvir, M.R., González, J. (2016). Protection of sunflower seed and sunflower meal protein with malic acid and heat: effects on in vitro ruminal fermentation and methane production. *Journal of Science*. 97(1), 350-356. <https://doi.org/10.1002/jsfa.7743>
- Van Soest, P.J. (1994). Nutritional Ecology of the Ruminant. 2th edn. Cornstock Publishing 408 Associates, Cornell University Press, Ithaca, EEUU. ISBN: 0-8014-27772-X
- Wallace, R.J., Atasoglu, C., Newbold, C.J. (1999). Role of peptides in rumen microbial metabolism. Review Asian-Aust. *Journal of Animal Science*, 12(1), 139-147. <https://doi.org/10.5713/ajas.1999.139>
- Walker, N.D., Newbold, C.J., Wallace, R.J. (2005). Nitrogen metabolism in the rumen. In E. Pfeffer, & A. Hristov (Eds.), *Nitrogen and Phosphorus Nutrition of Cattle*. CABI Publishing, Cambridge, MA. p. 71-115 <https://files2.sheway.com/files/68322.pdf#page=85>
- Yousefi, R., Taghizadeh, A., Paya, H., Hossein-Khani, A., Palangi, V., Abachi, S., ... Besharati, M. (2022). Usability of whey powder as an alternative protein source in ruminant nutrition. *Clean Technologies and Environmental Policy*, 24(9), 2967-2974. <https://doi.org/10.1007/s10098-022-02363-5>