



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE SAN LUIS POTOSÍ  
FACULTAD DE AGRONOMÍA Y VETERINARIA

CENTRO DE INVESTIGACIÓN EN ESTUDIOS DE POSGRADO  
MAESTRÍA EN PRODUCCIÓN AGROPECUARIA



**Efecto de zeolita natural en nitrógeno de lenta liberación en  
ovejas Rambouillet en crecimiento.**

Por:

José Alejandro Roque Jiménez

Tesis presentada como requisito parcial para obtener el grado de  
Maestro en Producción Agropecuaria

Soledad de Graciano Sánchez, S.L.P.

julio del 2016.



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE SAN LUIS POTOSÍ  
FACULTAD DE AGRONOMÍA Y VETERINARIA

CENTRO DE INVESTIGACIÓN EN ESTUDIOS DE POSGRADO  
MAESTRÍA EN PRODUCCIÓN AGROPECUARIA



**Efecto de zeolita natural en nitrógeno de lenta liberación en  
ovejas Rambouillet en crecimiento.**

Por:

I.A.Z. José Alejandro Roque Jiménez

Asesores de Proyecto:

Dr. Héctor Aarón Lee Rangel

Dr. Juan Manuel Pinos Rodríguez

Dr. Marco Antonio Rivas Jacobo

Soledad de Graciano Sánchez, S.L.P.

julio del 2016.

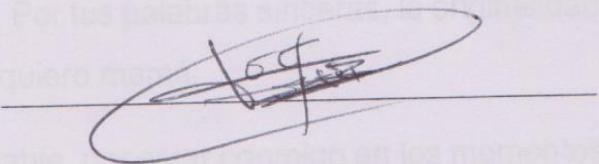
El trabajo titulado “EFECTO DE ZEOLITA NATURAL EN NITROGENO DE LENTA LIBERACIÓN EN OJEVAS RAMBOUILLET EN CRECIMIENTO”, fue realizado por: **José Alejandro Roque Jiménez** como requisito parcial para obtener el grado de **Maestro en Producción Agropecuaria** en el área “Producción de Pequeños Rumiantes” y fue revisado y aprobado por el suscrito Comité de Tesis.

Amor, te veo aun mas grande. Te quiero papa

Mia, Guadalupe Jiménez, por todo ese amor que solo una madre puede dar, consejos, orientación y una excelente educación. Por esas caricias del cabello que

me daban, por tu amistad, por tu sonrisa, por tu dulzura y cariño, por las risas que

Dr. Héctor Aarón Lee Rangel

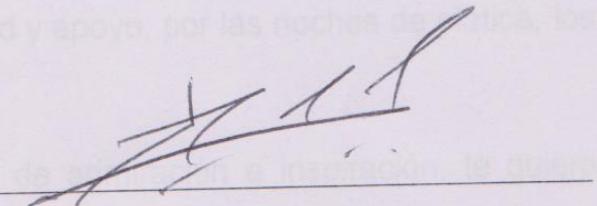


Asesor Principal

Amor, por un lazo entrañable, por tu amor en los momentos

de tristeza, cuando una tie puede estar por tu amistad y consejos, por los recuerdos de

Dr. Juan Manuel Pinos Rodríguez

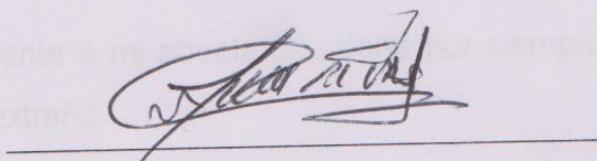


Asesor

Amor, mi hermano “Manu” Roque, por ser mi mejor amigo, una excelente persona, por

tenerte la cercanía de realizar cualquier actividad y siempre apoyarme. Te quiero

Dr. Marco Antonio Rivas Jacobo



Asesor

Amor, mis amigos Jorge C., Pepe Gómez, Omar G., Carlos Guadalupe R., Esteban R.

Ejido Palma de la Cruz, Municipio de Soledad de Graciano Sánchez, San Luis  
Potosí, a 22 de julio de 2016.

## **DEDICATORIA**

A J. Guadalupe Roque, por toda una vida de memorables recuerdos, admiración, sustento, apoyo, orientación, consejos y una valiosa sabiduría que me has transmitido, mi gran amigo y padre, de pequeño te veía gigante y hoy que ya soy adulto, te veo aún más grande. Te quiero papá.

A Ma. Guadalupe Jiménez, por todo ese amor que solo una madre puede dar, consejos, orientación y una excelente educación. Por esas canitas del cabello que han aparecido por mi forma de ser, gracias. Por tus palabras sinceras, la originalidad con las que las expresas y transmitemos. Te quiero mamá.

A Ma. Socorro Jiménez, por un lazo entrañable, por estar conmigo en los momentos en los que solo una tía puede estar, por tu amistad y consejos, por los recuerdos de viajes y aventuras, por todo tu apoyo y solidaridad. Te quiero tía Toto.

A Ma. Raquel Roque, por una gran amistad y apoyo, por las noches de platica, los consejos e historias, te quiero tía Raqui.

A Luis “Boli” Alberto, por ser una fuente de admiración e inspiración, te quiero hermano. Isabella tu papá es genial, espero crezcas mucho, te quiero.

A Emmanuel “Manu” Roque, por ser mi mejor amigo, una excelente persona, por tener la capacidad de realizar cualquier actividad y siempre apoyarme. Te quiero hermano.

A la memoria de mis abuelos, especialmente a mi abuela Desideria por siempre desearme lo mejor, por todo el cariño, te extraño.

A toda mi familia, los quiero mucho, Jesús, Jesús Jr., Marcela.

A mis amigos: Jorge C., Fco. Oviedo, Omar C., Carlos G., Andrea M., Fabiola M., Israel A., Ramón D., David U., Angélica G., Jorge R, Antonio A., Heriberto L. Marco A., Marcela R., Jesús Y., Haile Y., Diana N., Mayra G., Agustín., Antonio A.

## **AGRADECIMIENTOS**

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT), por el otorgamiento de beca para la realización de mis estudios de maestría. CVU/Becario 634168/33077, y Beca Mixta 291061. Al CIEP de la Facultad de Agronomía y Veterinaria por su apoyo económico para la toma de Curso de Producción de Gas In Vitro en la Universidad Autónoma de Chapingo (junio 2015).

A mi alma mater Benemérita Universidad Autónoma de San Luis Potosí.

A la Facultad de Agronomía y Veterinaria de la U.A.S.L.P.

Al Instituto de Investigación en Ciencias Veterinarias, U.A.B.C.

Al Dr. Héctor Lee, por todo su apoyo, orientación, paciencia y amistad, siempre comprometido a emprender nuevos proyectos para apoyar a sus estudiantes, un pilar en mi formación académica.

Al Dr. Juan Manuel Pinos Rodríguez, por su apoyo, orientación y consejos.

Al Dr. Marco Antonio Rivas, por su orientación y recomendaciones.

Al Dr. Alejandro Plascencia Jorquera por recibirme en el IICV. de la Universidad Autónoma de Baja California y compartir sus conocimientos.

Al Ing. Enrique Gasca González, gerente de la empresa SEMIKAM, S.A de C.V. por el apoyo otorgado al presente trabajo.

A mis amigos, MC. Jorge Cayetano, I.A.Z. Mario Oviedo, I.A.Z. Frank Amaro por su incondicional apoyo en mi proyecto.

A mis compañeros y amigos del Laboratorio de Bromatología, Jorge, Oviedo, Carlos y Oswaldo.

Al Dr. Jesús David Urías Estrada por todo el apoyo y amistad en mi periodo de estancia en Mexicali.

A mis compañeros y amigos de la Universidad Autónoma de Baja California.

## INDICE

<b>DEDICATORIA .....</b>	1
<b>AGRADECIMIENTOS .....</b>	2
<b>RESUMEN .....</b>	5
<b>SUMMARY .....</b>	6
<b>INTRODUCCIÓN .....</b>	7
<b>HIPÓTESIS .....</b>	9
<b>OBJETIVOS .....</b>	9
<b>Objetivo General.....</b>	9
<b>Objetivos Específicos .....</b>	9
<b>CAPITULO 1.-.....</b>	10
<b>REVISIÓN DE LITERATURA .....</b>	10
<b>Características Generales de las Zeolitas Naturales.....</b>	10
Antecedentes .....	10
Estructura físico químicas .....	10
<b>Principales Tipos de Zeolita .....</b>	12
<b>Composición Mineralógica de las Zeolitas .....</b>	12
<b>Usos y aplicaciones de las zeolitas .....</b>	13
Industria de Detergentes y Jabones.....	13
Industria Petroquímica.....	13
Industria Nuclear.....	13
Calefacción y Refrigeración .....	13
Construcción .....	14
Médica .....	14
Agricultura.....	14
<b>Las zeolitas en la producción animal .....</b>	14
<b>Importancia de la lenta liberación de Nitrógeno en rumiantes.....</b>	15
<b>Proteína en los rumiantes .....</b>	17
<b>Sistema PDI, INRA.....</b>	18
<b>LITERATURA CITADA DE LA REVISIÓN.....</b>	20
<b>CAPITULO 2.-.....</b>	25

<b>Effect of natural zeolite on live weight changes, ruminal fermentation and nitrogen metabolism of ewes.....</b>	25
Resumen. – .....	25
<b>Abstract.....</b>	26
<b>Introduction .....</b>	26
<b>Material and methods.....</b>	27
<b>Results .....</b>	30
<b>Discussion .....</b>	33
<b>References .....</b>	38
<b>INDICE DE ANEXOS.....</b>	44
ANEXO I.- Carta de aceptación en el Instituto de Investigación en Ciencias Veterinarias, perteneciente a la Universidad Autonoma de Baja California. ....	44
ANEXO II.- Programa de actividades en el Instituto de Investigación en Ciencias Veterinarias, perteneciente a la Universidad Autonoma de Baja California. ....	44
ANEXO III.- Formato de Informe de Actividades realizadas, Beca Mixta N° 291061. ....	44
ANEXO IV.- Carta de transferencia de tecnologia a productor.....	44

## RESUMEN

Dieciséis ovejas con un peso inicial de  $41.06 \pm 3.9$  kg fueron asignados aleatoriamente a uno de cuatro tratamientos experimentales: 0, 20, 40, y 60 g de zeolita (SEMIKAM S.A. de C.V.® México) en un kilogramo de materia seca de la dieta, se utilizó un diseño de cuadro latino 4 x 4 para las unidades observacionales. El consumo no fue modificado por los niveles de zeolita en la dieta, y la ganancia diaria de peso mostró una respuesta cuadrática ( $P < 0,05$ ), la concentración de amoníaco mostro un comportamiento lineal ( $P < 0,05$ ) a las ocho y doce horas, también aumentó la concentración de amonio a ocho horas (efecto lineal  $P < 0,05$ ). El pH ruminal se incrementó (efecto lineal  $P < 0,05$ ) a los ocho y 12 horas, acetato y butirato presentan una respuesta cuadrática ( $P < 0,01$ ), y la concentración total de ácidos grasos volátiles se aumentó linealmente ( $P < 0,01$ ) en líquido ruminal. La retención de nitrógeno mostró una respuesta lineal y cuadrática ( $P < 0,05$ ), y el PDIE y PDIN que estiman fracciones proteicas mostraron una respuesta lineal y cuadrática ( $P < 0,05$ ). El PDIE se correlacionó positivamente ( $r = 0,96$ ;  $P > = 0,03$ ) con la ganancia diaria de peso, mientras que PDIN con NH<sub>3</sub> ( $r = 0,95$ ;  $p = 0,04$ ) y la ingesta se relacionó positivamente con N retenido ( $r = 0,97$ ;  $p = 0,02$ ).

## SUMMARY

Sixteen Rambouillet ewes with an initial weight of  $41.06 \pm 3.9$  kg were randomly assigned to one of four experimental diets: 0, 20, 40, and 60 g of natural zeolite (SEMIKAM S.A. de C.V. ® México) per kg dietary dry matter in a replicated 4 x 4 Latin Square design. Performance was not modified by natural zeolite levels in the diet, and daily gain showed a quadratic response ( $P<0.05$ ). Ammonia concentration (linear  $P<0.05$ ) at eight and 12 hours and also increased for ammonium concentration at eight hours (linear effect  $P<0.05$ ). Ruminal pH was increased (linear effect  $P<0.05$ ) at eight and 12 hours. Acetate and butyrate presented a quadratic response ( $P<0.01$ ), and total volatile fatty acid concentration was linearly increased ( $P<0.01$ ) ruminal liquid. Nitrogen retention showed a linear and quadratic response ( $P<0.05$ ). The estimated fractions of protein digested in the small intestine when rumen-fermentable energy was limiting (PDIE) and when rumen-fermentable nitrogen was limiting showed a linear and quadratic response ( $P<0.05$ ), and PDIE was positive correlated ( $r = 0.96$ ;  $P = 0.03$ ) with average daily gain.

## INTRODUCCIÓN

Las zeolitas son aluminosilicatos cristalinos hidratados, que pueden ser de origen natural o sintético, denominadas “el mineral del siglo”. Son de origen volcánico mediante reacciones hidrotérmicas de rocas volcánicas de silicio (Jimenez, 2004). Investigaciones geológicas sugieren que las zeolitas se generan a partir de un magma basáltico rico en SiO<sub>2</sub>, cuando sufre una violenta caída de temperatura (Smart, 1995). Se agrupan en grandes cantidades que les permite formar yacimientos, poseen estructuras cristalinas de alumino-silicato de álcali, en las que prevalece el Mg, Ca, Na y K (Wise, 2005).

En general, las zeolitas son estructuras que permiten la formación de cavidades con dimensiones de 6 a 12 Å. Dentro de éstas cavidades existen posiciones que pueden ser ocupadas por iones y moléculas de agua. Por otra parte, esta estructura de cavidades, permite la transferencia de materia entre el espacio intracristalino y el medio que lo rodea (Arellano, 1994). De acuerdo a estas características se ha sugerido la inclusión de zeolitas naturales en la alimentación de rumiantes por su capacidad de adsorción e intercambio iónico y como reservorio de nitrógeno amoniacal requerido por las bacterias (Ruiz *et al.*, 2007).

Esto puede ser de utilidad cuando existe urea en la dieta que se hidroliza rápidamente en amoniaco (NH<sub>3</sub>) post consumo, la rápida hidrólisis de la urea puede tener efectos negativos en la salud del animal ya que puede ser parcialmente responsable de la baja eficiencia de la captura de nitrógeno en el rumen por bacterias ruminantes (Sadeghi y Shawrang, 2006; Calsamiglia *et al.*, 2010). Por lo tanto, NH<sub>3</sub> en exceso es perjudicial para el animal (Bartley *et al.*, 1981) y también contribuye a la contaminación del medio ambiente (Broderick *et al.*, 2009). Bergero, (1997) realizó un informe sobre el uso de clinoptilolitas en vacas, resaltó la interacción de la zeolita con nitrógeno amoniacal y proteína microbiana en rumen, así mismo fundamentó su investigación en la reducción de costo en las dietas de las vacas debido a la incorporación de urea teniendo como resultado un aumento en el nitrógeno no proteico (NNP) a nivel ruminal, concluyendo que la zeolita natural tiene la habilidad de adsorber el amoniaco, volviéndolo NNP de lenta liberación,

aprobando la investigación de Mumpton y Fisherman (1977) en la que recomendaban el uso de 1% de zeolita, en esta conclusión se hizo un énfasis en la propiedad no solo de retener el nitrógeno a nivel ruminal, sino también de mantener los niveles de acidez en un pH óptimo para el funcionamiento adecuado de las bacterias, investigado esto último también por Hemken et al., (1983).

Aunque se ha informado que las zeolitas son capaces de secuestrar y posteriormente liberar proporcionalmente iones amonio presentes en contenido ruminal, Sweeney *et al.* (1980) y Forouzani et al. (2004) no encontraron un efecto de la zeolita sintética sobre la concentración de amoniaco ruminal. Sadeghi y Shawrang (2006) incluyeron 30 g / kg de zeolita en una dieta que contenía 20 g / kg de urea y observaron una disminución de la concentración nitrógeno amoniacal en rumen, aumento de la digestibilidad de la fibra y un mejor rendimiento productivo en novillos Holstein. Junto a estas investigaciones se ha estudiado a mayor profundidad las propiedades de la zeolita en la nutrición animal, investigadores como White y Ohlrogge (1974), Jacobi (1984), Loughbrough (1993), Galindo (1984), Gutiérrez (1999) Tomasevic-Canovic (2002), también dieron a conocer resultados favorables al uso de zeolitas en la alimentación animal.

Sobre la base de estas consideraciones, el objetivo de este estudio fue evaluar los efectos de añadir tres niveles de zeolita natural (2, 4 y 6 porciento) a dietas para ovejas en crecimiento de la raza Rambouillet, mientras se mantenía el mismo nivel de urea. Se evaluó el comportamiento productivo, la fermentación ruminal, el metabolismo del nitrógeno y los cambios de peso vivo.

## **HIPÓTESIS**

A niveles crecientes de zeolita natural, habrá liberación lenta de nitrógeno a nivel ruminal lo que representará un cambio positivo en el comportamiento productivo, la fermentación ruminal, el metabolismo del nitrógeno y los niveles de proteína degradable en rumen y no degradable.

## **OBJETIVOS**

### **Objetivo General**

Evaluar el efecto de la inclusión de zeolita natural en la liberación lenta de nitrógeno en el rumen de corderas Rambouillet en crecimiento.

### **Objetivos Específicos**

- Evaluar el efecto de diferentes niveles de zeolita en variables productivas.
- Evaluar el efecto de diferentes niveles de zeolita en parámetros de fermentación.
- Determinar balance de nitrógeno.
- Estimar valores de PDIA y PDIN.

## CAPÍTULO 1.-

### REVISIÓN DE LITERATURA

#### **Características Generales de las Zeolitas Naturales.**

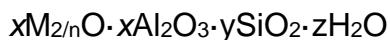
##### Antecedentes

El mineral zeolita fue descubierto en el año de 1756 como cristales bien formados en la cavidad basal de una roca, su descubridor el Barón Axel Fredrick Cronstedt fue quien las nombró piedras hirvientes (del griego *zeo*: hiervo y *lithos*, piedra) en alusión a su peculiar característica espumosa caliente. Desde ese tiempo alrededor de 40 especies naturales de zeolita han sido clasificadas y reorganizadas, así mismo un número cercano han sido sintetizadas en laboratorio (Mumpton & Fishman, 1977).

##### Estructura fisicoquímicas

Una zeolita es un sólido cristalino (Mumpton F. A., 1999), un mineral de aluminosilicatos hidratados ampliamente difundidos en la naturaleza (Wise, 2005), que al deshidratarse desarrollan, en el cristal ideal, una estructura porosa con diámetros de poro mínimos, de 3 a 10 angstroms (Bosch & Schifter, 1997). A su vez son compuestos de aluminio (Al) y silicio (Si), donde se presentan como tetraedros alternos. La estructura cristalina de las zeolitas contiene fundamentalmente oxígeno y silicio en una relación 2:1; si cada tetraedro contiene silicio (Si) en su tercer catión central, la estructura es eléctricamente neutra. En las zeolitas el Si tetravalente se reemplaza por el aluminio (Al) trivalente, dando lugar a diferencias de cargas positivas. Las cargas negativas libres están balanceadas por cationes mono y divalentes, tales como:  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ , que cubren la estructura (Mumpton and Fishman 1977; Pond y Mumpton 1984; Roque, 1988; Bosch y Schifter, 1988).

La fórmula empírica de las zeolitas es:



En donde M representa al ion intercambiable y n su estado de oxidación.

Las zeolitas son caracterizadas por las siguientes propiedades (Breck, 1974):

- Alto grado de hidratación.
- Baja intensidad y un gran volumen de vacíos cuando es deshidratada.
- La estabilidad de su estructura cristalina cuando se deshidrata.
- Las propiedades de intercambio de catión.
- Presentan canales moleculares uniformes clasificados en los cristales deshidratados.
- Por su habilidad de adsorber gases y vapores.
- Por sus propiedades catalíticas.

Estos tetraedros son las unidades fundamentales de la estructura, los hay con un átomo de Si en el centro, o bien con un Al. No parece ser de mayor trascendencia que los tetraedros sean de Si o de Al siempre y cuando se respete el equilibrio de cargas, o sea, que las cargas libres debidas a la presencia del Al se neutralicen con otros iones (Bosch & Schifter, 1997).

Este armazón contiene canales donde se encuentran los cationes sodio ( $Na^+$ ), calcio ( $Ca^{2+}$ ), magnesio ( $Mg^{2+}$ ), potasio ( $K^+$ ); que neutralizan las cargas negativas y moléculas de agua. Estos cationes son móviles y se pueden intercambiar en diferentes grados por otros cationes (Mumpton & Fishman, 1977, Mumpton F. A., 1999). El potencial de aplicaciones de tanto zeolitas sintéticas y naturales se derivan, por supuesto, de sus propiedades fundamentales físicas y químicas, que en su vez están relacionados directamente con sus estructuras cristalinas y composiciones químicas (Mumpton F. A., 1999). Así mismo tienen un gran atractivo para el agua y muchos iones con carga positiva ( $K^+$ ,  $NH_4^+$ ,  $Ca^{2+}$ ,  $Na^+$  y  $Mg^{2+}$ ) que pueden ser tomados o liberados en función de las condiciones del entorno (Hay, 1978).

Cada especie de zeolita tiene su propia estructura y por lo tanto su propia serie de propiedades físicas y químicas; sin embargo, la mayoría de las estructuras pueden ser visualizadas como  $\text{SiO}_4$  y  $\text{AlO}_4$ , tetraedros unidos en una forma geométrica simple, formando redes unidas tridimensionalmente (Mumpton and Fishman, 1977; Pond y Mumpton, 1984; Bosch y Schifter, 1988).

### **Principales Tipos de Zeolita**

Las zeolitas son naturales y sintéticas, a su vez son clasificadas como tectoaluminosilicatos. La clinoptilolita y la modernita son los tipos de zeolitas más abundantes e importantes a escala mundial. La clinoptilolita, es uno de los minerales más resistentes a los ácidos y a la temperatura relativamente alta y en comparación con otros minerales de su grupo posee una alta capacidad de intercambio iónico que propicia la incorporación de mezclas durante su análisis, alta capacidad de adsorción y un color variado.

### **Composición Mineralógica de las Zeolitas.**

Las zeolitas se presentan preferentemente en las rocas de origen volcánico, en las cuales se agrupan en grandes cantidades que les permite formar yacimientos.

Investigaciones han determinado un total de 40 minerales pertenecientes a la familia de las zeolitas, siendo los más importantes: Analcima, Chabacita, Clinoptilolita, Erionita, Mordenita, Faujasita, Ferrierita, Heulandita, Gismondita, Natrolita segundas. En nuestro estado de San Luis Potosí se encuentran yacimientos de clinoptilolita.

De las más de 40 especies de zeolitas conocidas en la actualidad, sólo 10 tipos se han probado en la alimentación animal, la clinoptilolita es una de las zeolitas con mayor número de referencias bibliográficas (Castaing, 1998).

## **Usos y aplicaciones de las zeolitas**

### Industria de Detergentes y Jabones

Los cationes hidratados dentro de los poros de la zeolita están unidos débilmente y preparados para intercambiarse con otros cationes cuando se encuentran en un medio acuoso. Esta propiedad permite su aplicación como ablandadores de agua, y el uso de zeolitas en detergentes y jabones (Altmajer, 2004).

### Industria Petroquímica

Debido a su capacidad para interactuar con moléculas orgánicas, las zeolitas son importantes en la refinación y purificación de gas natural y productos químicos derivados del petróleo. Las zeolitas no se ven afectadas por estos procesos que se llevan a cabo, por lo que actúan como catalizadores. (Bascuñán y Campos, 1982)

### Industria Nuclear

Las zeolitas tienen usos en los métodos de reprocesamiento avanzados, donde la microporosidad tiene la capacidad de captar algunos iones y a su vez permite que otros pasen libremente. Las propiedades minerales de las zeolitas son importantes, ya que la construcción alumino-silicato es extremadamente duradera y resistente a la radiación. (Bosch y Schifter, 1997)

### Calefacción y Refrigeración

Las zeolitas pueden ser utilizadas como colectores solares térmicos y de refrigeración de adsorción. En estas aplicaciones se explota su elevado calor de adsorción y la capacidad de hidratar y deshidratar mientras se mantiene la estabilidad estructural. (Trujeque, 2010)

### Construcción

La zeolita sintética también se utiliza como aditivo en el proceso de producción de la mezcla de agua tibia de concreto asfáltico. Con el desarrollo de esta aplicación se ayudó a disminuir el nivel de temperatura durante la fabricación del concreto asfáltico, lo que resulta beneficioso por el menor consumo de combustibles fósiles, lo que también implica menor generación de dióxido de carbono, aerosoles, y vapores. (Robalino y Eguez s.f)

### Médica

La investigación y desarrollo de aplicaciones bioquímicas y biomédicas de las zeolitas, en particular en las especies que ocurren naturalmente como la heulandita, la clinoptilolita y la chabacita han sido permanentes. Zeolitas concentradoras basadas en sistemas de oxígeno son ampliamente utilizadas para crear oxígeno de grado médico. (Perdomo et al., 1998)

### Agricultura

En la agricultura, las zeolitas mejoran las propiedades químicas y físicas del suelo, es uno de los caminos más efectivos para incrementar la capacidad de intercambio catiónico (CIC) en la zona de las raíces y disminuir las aplicaciones de fertilizantes reduciendo las pérdidas por volatilización y lixiviación de los de los mismos. (Coello y Osorio, 2003)

### **Las zeolitas en la producción animal.**

Ya que las zeolitas son estructuras que permiten la formación de cavidades con dimensiones de 6 a 12 Å, y que dentro de éstas cavidades existen posiciones que pueden ser ocupadas por iones y moléculas de agua (Arellano, 1994), se ha sugerido la inclusión de zeolitas naturales en la alimentación de rumiantes por su capacidad de adsorción e intercambio iónico y posible reservorio de nitrógeno amoniacal requerido por las bacterias (Ruiz et al., 2004).

## **Importancia de la lenta liberación de Nitrógeno en rumiantes.**

Los rumiantes gozan de la capacidad única de subsistir y producir sin disponer de una fuente de proteína dietética debido a la síntesis de proteína microbiana en el interior del rumen (Zinn, 1993). Estos microorganismos requieren fuentes de nitrógeno no proteico (NNP) para la adecuada síntesis de proteína microbiana.

La fuente más común de NNP utilizada en la alimentación de rumiantes es la urea. El problema con la urea es su rápida hidrólisis dentro del rumen, convirtiéndose en amoniaco ( $\text{NH}_3$ ) post consumo.

Esta rápida hidrólisis puede tener efectos negativos en la salud del animal ya que puede ser parcialmente responsable de la baja eficiencia de la captura de nitrógeno en el rumen por bacterias ruminantes (Sadeghi y Shawrang, 2006; Calsamiglia *et al.*, 2010). Por lo tanto,  $\text{NH}_3$  en exceso es perjudicial para el animal (Bartley *et al.*, 1981) y también contribuye a la contaminación del medio ambiente (Broderick *et al.*, 2009; Edelman, 1997; McCollum y Horn, 1990)

En un intento por reducir los efectos tóxicos de altos niveles de  $\text{NH}_4$  en el líquido ruminal, cuando se proporciona urea como NNP, White y Ohlrogge (1974) introdujeron zeolita natural y sintética al rumen de animales en experimentación y señalan que aproximadamente el 15 % de  $\text{NH}_3$  presente en el rumen, fue captado por la zeolita, por lo tanto, los rumiantes tuvieron una mejor utilización del nitrógeno.

Junto con esta investigación se han reportado diferentes resultados por la inclusión de zeolita en rumiantes como medio de lenta liberación de nitrógeno.

Bergero, (1997) realizó un informe sobre el uso de clinoptilolitas en vacas, resaltando la interacción de la zeolita y el amonio en rumen, así mismo reportó la reducción de costo en las dietas de las vacas debido a la incorporación de urea teniendo como resultado un aumento en el nitrógeno no proteico (NNP) a nivel ruminal, concluyendo que la zeolita natural tiene la habilidad de adsorber el amoniaco, volviéndolo NNP de lenta liberación, aprobando la investigación de

Mumpton y Fisherman (1977) en la que recomendaban el uso de 1% de zeolita en la que se hizo un énfasis, en que la zeolita tiene la propiedad no solo de retener el nitrógeno a nivel ruminal, sino también de mantener los niveles de acidez en un pH óptimo para el funcionamiento adecuado de las bacterias, investigado esto último también por Hemken et al., (1983) en vacas lecheras suplementadas con urea en su dieta, concluyendo que la zeolita no demostró una diferencia significativa en aumento de proteína cruda (PC) ni en Calcio, Magnesio y Potasio.

Sweeney, (1983) realizó su investigación en el efecto de dietas con clinoptilolitas en la digestión y fermentación ruminal en novillos, orientada a demostrar la habilidad de las zeolitas en la retención de amoniaco para beneficio de los microorganismos ruminales, y concluyó que la inclusión de la zeolita en la dieta para novillos aumentó fibra y la disponibilidad de nitrógeno no proteico en rumen.

Nesterov et al., (1979) reportaron que al adicionar 5% de clinoptilolita en la ración de novillos, se obtuvo una relación de 30:70 NNP y proteína, la concentración de NH<sub>3</sub> y urea en el rumen se redujo al mismo tiempo que se incrementaron los niveles de aminoácidos en sangre y rumen.

Al alimentar ovinos Ad libitum con una dieta suplementada con urea (0.9 %) más zeolita (3%), se mostró una alta tendencia en la retención de N, presentando los ovinos una baja excreción urinaria, obteniendo mejor utilización del N (Parre et al., 1997). Por lo tanto, la presencia de zeolita puede contribuir a un ambiente ruminal estable con respecto al nitrógeno aprovechable, lo que beneficiará a los microorganismos del rumen y al animal.

Sin embargo, en otro ensayo, la concentración de NH<sub>3</sub> en rumen no fue afectada por la adición de 2 % zeolita (sintética) y 1.0 % NaHCO<sub>3</sub> en la dieta de vacas lecheras (Johnson et al., 1988). Forouzani et al., (2004) estudiaron el efecto de inclusión de zeolita (0, 30 y 60 g/kg dieta) en la concentración de amoniaco, estos autores no encontraron efecto de retención en la concentración de amoniaco en líquido ruminal entre las dietas.

Jacobi (1984), Loughbrough (1993), Galindo (1984), Gutiérrez (1999) Tomasevic-Canovic (2002), han dado a conocer diferentes resultado favorables al uso de zeolitas en la alimentación animal, sobre cómo la inclusión de estos aluminosilicatos obedece a sus propiedades fisicoquímicas, que permiten mejorar la eficiencia nutricional en rumiantes, sobre todo cuando se utilizan raciones fibrosas de mala calidad en rumiantes, al igual que la propiedad de estar compuestas por iones minerales móviles e intercambiables, con gran selectividad para el amoniaco así como para el potasio, sodio, calcio y magnesio, esenciales para el crecimiento de algunos microorganismos ruminantes celulolíticos.

### **Proteína en los rumiantes**

Las proteínas y la urea o cualquier fuente de NNP que llega al rumen, son degradadas a NH<sub>3</sub> mientras que la mayoría de los aminoácidos son desaminados. (McDonald, et al. 2011).

La proteína de los alimentos es dividida en tres fracciones: A, B y C.

- La fracción A se refiere al nitrógeno no proteínico y considera al amonio, péptidos y aminoácidos, que por su alta solubilidad ruminal, son rápidamente convertidos en amoniaco dentro del rumen.
- La fracción B se refiere a la proteína verdadera, y la cual, además, es subdividida en tres (B1, B2 y B3), con base a su tasa de degradación ruminal. La subfracción B1 es la proteína rápidamente degradable en rumen. La subfracción B2 es la proteína que parte es degradada en rumen y parte en intestino delgado, y que su tasa de degradación dependerá de la tasa de digestión y de pasaje. La subfracción B3 es la proteína que es lentamente degradable en rumen, y gran parte de ella es utilizable en intestino delgado.

- La fracción C se refiere a la proteína indigestible o ligada a lignina, taninos o a productos Maillard, razón por la cual son altamente resistentes a la degradación ruminal y enzimas digestivas (Sniffen, et al., 1992; Pinos, et al., 2005).

### **Sistema PDI, INRA.**

Los valores proteicos para rumiantes pueden ser estimados con el sistema proteína digestible en intestino (PDI) de INRA, el cual estima dos valores de proteína verdaderamente digestible en intestino (PDI): PDIN, definida como la cantidad de proteína digestible en intestino delgado asignada al alimento por la proteína que corresponde a la cantidad de proteína cuando la energía y otros nutrientes no están limitando la síntesis de proteína microbiana; y PDIE, definida como la cantidad de proteína digestible en intestino delgado asignada al alimento por la energía que representa la cantidad de proteína cuando el nitrógeno degradable en rumen y otros nutrientes no son limitantes para los microorganismos ruminantes, con las siguientes ecuaciones (INRA, 1989):

$$PDIA = (PC) (1,11) (1- \text{Deg}) (\text{dsi})$$

$$PDIMN = (PC) (0,64) (\text{Deg} - 1)$$

$$PDIME = 0,093 (\text{MOF} - \text{EE})$$

$$PDIN = PDIA + PDIMN$$

$$PDIE = PDIA + PDIME$$

donde:

PC = proteína cruda, g/kg materia seca (MS)

Deg = proteína degradable en rumen (kg/kg CP)

dsi = digestibilidad verdadera en el intestino delgado de la proteína dietaria no degradada en rumen.

PDIA = proteína dietaria no degradada en rumen, verdaderamente digestible en intestino delgado, g/kg MS.

PDIMN = Cantidad de proteína microbiana que podría ser sintetizada en el rumen del N dietario degradado en rumen, cuando energía y otros nutrientes no son limitantes, g/kg MS.

PDIME = Cantidad de proteína microbiana que podría ser sintetizada de la energía disponible en rumen, cuando el N degradable en rumen y otros nutrientes no son limitantes, g/kg MS.

MOF = contenido de material orgánica fermentable en rumen, g/kg MS

EE = extracto etéreo, g/kg DM.

## LITERATURA CITADA DE LA REVISIÓN.

- Altmajer Vaz, D. 2004. Formulaciones Detergentes Biodegradables: Ensayos de Lavado. Granada: Departamento de Ingenieria Quimica, Universidad de Granada.
- Arellano Valencia, Felipe. 1994. "Estudio del Intercambio de cobalto y cadmio en Zeolita FaujasitaY". Tesis de Licenciatura. Facultad de Ingeniería Química. UV. Veracruz, México.
- Bartley EE, Avery TB, Nagaraja TG, Watt BR, Davidovich A, Galitzer S, Lassman B 1981. Ammonia toxicity in cattle. V. Ammonia concentration of lymph and portal, carotid and jugular blood after the ingestion of urea. Journal of Animal Science 53, 494–498.
- Bascuñan, C. A., & Campos Reales, E. 1982. Zeolitas naturales y sinteticas para la industria petroquímica y agropecuaria. Elementos Num. 12 Año 3 Vol. 2, 13-18.
- Bergero, D. 1997. Effect od Feeding Clinoptilolite to Cows. Via Nizza. Italia: Universita di Torino.
- Bosch, P., & Schifter, I. 1997. La Zeolita una piedra que hierve. México: Fondo de Cultura Economica.
- Breck, D. W. 1974. Zeolite Molecular Sieves. Wiley, New York.
- Broderick GA, Stevenson MJ, Patton RA 2009. Effect of dietary protein concentration and degradability on response to rumen-protected methionine in lactating dairy cows. Journal of Dairy Science. 92, 2719–2728.
- Calsamiglia S, Ferret A, Reynolds CK, Kristensen NB, Van Vuuren AM. 2010. Strategies for optimizing nitrogen use by ruminants. Animal 4, 1184–1196.
- Castaing, J. 1998. Uso de las arcillas en alimentacion animal. Avances en nutricion y alimentacion animal.

- Castaing, J. 1998. Uso de las arcillas en alimentación animal. XIV Curso de Especialización: Avances en nutrición y alimentación animal. Pau, Francia: Asociación General de Productores de Maíz.
- Coello, H., & Osorio, L. 2003. Estudio comparativo de fertilización orgánica y química en mezcla con zeolita en el cultivo de Capsicum anuum L. Quevedo: Facultad de Ciencias Agrarias. Universidad Técnica Estatal de Quevedo.
- Culfaz, M., & Yagiz., M. 2004. Ion exchange properties of natural clinoptilolite: lead-sodium and cadmium-sodium equilibria. Purif. Technol, 37-93.
- Edelman, Z. 1997. Temas selectos de nutrición. Israel: MASHAV y CINADCO.
- Forouzani, R., Rowghani, E., & Zamari, J. M. 2004. The effect of zeolite on digestibility and feedlot performance of Mehraban male lambs given a diet containing urea-treated Maite silage. Animal Sciencie, 78-179.
- Galindo, J., Elías, A. & Cordero, J. 1984. La adición de Zeolita a las dietas de ensilaje. II. Efecto de la Zeolita en la población microbiana ruminal en vacas que consumen ensilaje. Rev. Cubana. Cienc. Agríc. 18:55
- Gutiérrez, O., Castro, L. & Oramas, A. 1999. Efectos de la zeolita en la excreción fecal de nitrógeno y minerales en carneros con dietas de forraje verde y pienso comercial. Rev. Cubana Cienc. Agríc. 33:291
- Hay, R. L. 1978. Geologic occurrence of zeolites. Natural Zeolites: Occurrence, Properties, Use, 135-143.
- Hemken, R. W. 1983. Effect of Clinoptilolite on Lactating Dairy Cows Fed a Diet Containing Urea as a Source of Protein. Zeo-Agriculture: Use of Natural Zeolite in Agriculture and Aquaculture, 171–176.
- INRA 2010. Tableaux de la valeur des aliments Alimentation des bovins, ovins et caprins. Besoins des animaux – Valeurs des aliments. Tables INRA 2007, mise à jour 2010 (Nutrition of cattle, sheep and goats: animal needs – values of feeds. INRA Tables 2007. Revision in 2010). Quae, Versailles Cedex, France, pp. 188–290.

Jacobi, U. 1984. The Effect of Zeolite (Clinoptilolite) on the Post-feeding Dynamics of N Metabolism in the Portal Vein, Jugular Vein and the Rumen Fluid of Bulls. Vet. Med, Vol. 29.

Jiménez C. 2004. Caracterización de minerales zeolíticos mexicanos. Licenciatura en Química. Facultad de Ciencias Químicas, Universidad Autónoma del Estado de México.

Johnson, M. A., & Sweeney, T. F. 1988. Effects of feeding synthetic zeolite A and sodium bicarbonate on milk production nutrient digestion, and rate of digesta passage in dairy cows. Journal of Dairy Science, 71-94.

Loughbrough, R. 1993. Minerals for Animal Feed, in a Stable Market. Industrial Minerals, 19-33.

McCollum, F. T., & Galyean, M. L. 1983. Effects of clinoptilolite on rumen fermentation, digestión and feedlot performance in beef steers fed high concentrate diets. Journal of Animal Science, 517-524.

McDonald, P; Edwards, R A; Greenhalgh, J F; Morgan, C A; Sinclair, L A; Wilkinson, R G. 2011. Nutricion Animal 7a Edicion. Zaragoza: ACRIBIA.

Mumpton, F. A. 1999. La roca magica: Uses of natural zeolites in agriculture and industry. National Academy of Sciences Vol. 96, 3463–3470.

Mumpton, F. A., & Fishman, P. H. 1977. The Application of Natural Zeolites in Animal Science and Aquaculture. Journal of Animal Science, 1188-1203.

Nesterov, N., Slantscher, E., Sodlvor, N., Katzarov, D., & Popov, N. 1979. Investigations of the effect of clinoptilolite on adding in to the ration of lambs for fattering. Bulgariam-Soviet Symposium on natural zeolites, pag. 59. Kardjali, Bulgaria.

Parre, C., Silveira, P., Arrigoni, A., Bento, M., & Curi, P. 1997. Utilização de uréia e zeolita na alimentação de ovinos. digestibilidade e balanço de nitrogênio. Anais 34<sup>a</sup> Reunião Anual da SBZ. Juiz de Fora. 367-368

Perdomo Lopez, I., Cruz Verde, A., Iraizoz Colarte, A., Barrios Álvarez, A., Rodriguez Fuentes, G., Garcia Pulpeiro, O, 1998. Ungüento ZZ, antiséptico elaborado con una zeolita natural modificada. Revista Cubana de Farmacia, 169-173.

Pinos-Rodríguez, Juan Manuel, González, Sergio, Mendoza, Germán, García, Juan Carlos, Miranda, Luis, & De La Cruz, Guadalupe Adriana. 2005. Efecto de enzimas fibrolíticas exógenas en la degradación in vitro de ingredientes alimenticios, y en la producción de leche de vacas holstein. Interciencia, 30(12), 752-757.

Pond, W. G., & Mumpton, F. A. 1984. Use the natural zeolites in agriculture. Ed. Westvico-Press.

Robalino Espinoza, P., & Eguez Álava, H. (s.f.). El uso de la zeolita como una adición mineral para producir cemento puzolánico. Escuela Superior Politecnica del Litoral.

Roque, M. R. 1988. Fisica quimica de las zeolitas. Habana: CENIC.

Ruiz O, Castillo Y, Miranda MT, Elías A, Arzola C, Rodríguez C, La O. 2007 Levels of zeolite and their effects on the rumen fermentation of sheep fed alfalfa hay and concentrate. Cuban Journal of Agricultural Science 41 (3), 241-245.

Sadeghi AA, Shawrang P. 2006. The effect of natural zeolite on nutrient digestibility, carcass traits and performance of Holstein steers given a diet containing urea. Animal Science 82, pp 163-167.

Smart L. and Moore E. "Química del estado sólido". México: Addison-Wesley Iberoamericana, S.A; 1995.

Sniffen, C., O'Connor, J. D., Van Soest, P. J., Fox, D. G., & Russell, J. B. 1992. A net carbohydrate and protein system for evaluating cattle diets: II. Carbohydrate and protein availability. Journal of Animal Science 70, 3562-3577.

- Sweeney, T. F., L. S. Bull and R. W. Hemken. 1980. Effect of zeolite as a feed additive on growth performance in ruminants. *J. Anita. Sci.* 51 (Suppl. 1):401.
- Sweeney, T. F. 1983. Effect of Dietary Clinoptilolite on Digestion and Rumen Fermentation in Steers. *Zeo-Agriculture: Use of Natural Zeolite in Agriculture and Aquaculture*, 177-187.
- Tomasevic-Canovic, M. 2002. Surfactant Modified Zeolites. New efficient Adsorbents for Mycotoxins. *Zeolite '02, 6th International Conference, Occurrence, Properties and Utilisation of Natural Zeolites*, (págs. 353-354).
- Trujeque Bolio, J. G. 2010. Diseño de refrigerador solar por adsorción para clima calido húmedo. Queretaro: Instituto Politecnico Nacional.
- White, J., & Ohlrogge, A. J. 1974. Ion exchange materials to increase consumption of non-protein nitrogen in ruminants. 30.
- Wise, W. S. 2005. Zeolites. *Encyclopedia of Geology*, 591–600.
- Zinn, R. A. 1993. Influence of processing on the comparative feeding value of barley for feedlot cattle. *J. Anim. Sci.* 71:3- 10

## CAPITULO 2.-

### **Effect of natural zeolite on live weight changes, ruminal fermentation and nitrogen metabolism of ewes.**

Resumen. –

Diecisésis ovejas con un peso inicial de  $41.06 \pm 3.9$  kg fueron asignados aleatoriamente a una de cuatro dietas experimentales: 0, 20, 40, y 60 g de zeolita (SEMIKAM S.A de C.V.® México) en kilogramo de materia seca de la dieta, se utilizó un diseño de cuadro latino  $4 \times 4$  para las unidades observacionales. El rendimiento no fue modificado por los niveles de zeolita en la dieta, y la ganancia diaria mostraron una respuesta cuadrática ( $P < 0,05$ ) concentración de amoníaco (lineal  $P < 0,05$ ) a las ocho y doce horas y también el aumento de la concentración de amonio a ocho horas (efecto lineal  $P < 0,05$ ). El pH ruminal se incrementó (efecto lineal  $P < 0,05$ ) a los ocho y 12 horas acetato y butirato presentan una respuesta cuadrática ( $P < 0,01$ ), y la concentración total de ácidos grasos volátiles se aumentó linealmente ( $P < 0,01$ ) en líquido ruminal. La retención de nitrógeno mostró una respuesta lineal y cuadrática ( $P < 0,05$ ), y el PDIE y PDIN que estiman fracciones proteicas mostraron una respuesta lineal y cuadrática ( $P < 0,05$ ). El PDIE se correlacionó positivamente ( $r = 0,96$ ;  $P >= 0,03$ ) con la ganancia diaria de peso, mientras que PDIN con NH<sub>3</sub> ( $r = 0,95$ ;  $p = 0,04$ ) y la ingesta se relacionó positivamente con N retenido ( $r = 0,97$ ;  $p = 0,02$ ). Este manuscrito fue enviado al Animal Production Science, a la fecha 07/07/2016 se encuentra en su segunda revisión.

## **Effect of natural zeolite on live weight changes, ruminal fermentation and nitrogen metabolism of ewes**

### **Abstract**

The objective of this study was to evaluate the effects of natural zeolite on the performance and nitrogen metabolism of Rambouillet ewes. Sixteen Rambouillet ewes with an initial weight of  $41.06 \pm 3.9$  kg were randomly assigned to one of four experimental diets: 0, 20, 40, and 60 g of natural zeolite (SEMIKAM S.A de C.V.® México) per kg dietary dry matter in a replicated 4 x 4 Latin Square design. Performance was not modified by natural zeolite levels in the diet, and daily gain showed a quadratic response ( $P < 0.05$ ). Ammonia concentration (linear  $P < 0.05$ ) at eight and 12 hours and also increased for ammonium concentration at eight hours (linear effect  $P < 0.05$ ). Ruminal pH was increased (linear effect  $P < 0.05$ ) at eight and 12 hours. Acetate and butyrate presented a quadratic response ( $P < 0.01$ ), and total volatile fatty acid concentration was linearly increased ( $P < 0.01$ ) ruminal liquid. Nitrogen retention showed a linear and quadratic response ( $P < 0.05$ ). The estimated fractions of protein digested in the small intestine when rumen-fermentable energy was limiting (PDIE) and when rumen-fermentable nitrogen was limiting showed a linear and quadratic response ( $P < 0.05$ ), and PDIE was positive correlated ( $r = 0.96$ ;  $P = 0.03$ ) with average daily gain.

**Keywords:** Natural zeolite, ewe, soluble nitrogen.

### **Introduction**

Natural zeolites are aluminum silicates, which are able to catch ammonia ions ( $\text{NH}_4^+$ ), reducing the rate of their release and absorption. It has therefore been suggested that their inclusion in ruminant diets favourably affects the nutritional efficiency of the ruminants because a higher efficiency of N utilisation by rumen microbes is expected (Ruiz *et al.*, 2007). This may be useful when dietary urea is rapidly hydrolysed to  $\text{NH}_3$  in the rumen in the first hour post-ingestion, as when it is

fed in excess it may be partially responsible for the low efficiency of N capture in the rumen by ruminal bacteria (Sadeghi and Shawrang, 2006; Calsamiglia *et al.*, 2010). Therefore, NH<sub>3</sub> fed in excess is detrimental to the animal (Bartley *et al.*, 1981) and also contributes to environmental pollution (Broderick *et al.*, 2009).

Even though it was reported that zeolites are capable of sequestering and subsequently releasing proportionately 0·15 of the ammonium ions present in rumen contents (White and Ohlrogge, 1974), Sweeney *et al.* (1980) did not find an effect of synthetic zeolite on rumen ammonia concentration. Regarding the performance effects on beef and dairy cattle consuming zeolites, a higher feed intake has been reported with zeolites (McCollum and Galyean, 1983), but there are some inconsistent results which may be attributed to the ration ratios of zeolite:urea or zeolite:rumen degradable protein. Sadeghi and Shawrang (2006) included 30 g/kg of zeolite in a diet containing 20 g/kg of urea and observed a decreased ruminal ammonia nitrogen concentration, increased fibre digestibility and improved performance in Holstein steers. Based on those considerations, the objective of this study was to evaluate the effects of adding three levels of natural zeolite to growing rations for ewes, while maintaining the same level of urea, on productive performance, ruminal fermentation, nitrogen metabolism and live weight changes.

## **Material and methods**

### *Animals and diets*

Sixteen Rambouillet ewes with initial weights of 41.06 ± 3.9 kg were randomly assigned to one of four experimental diets: 0, 20, 40, and 60 g of natural zeolite

(SEMIKAM S.A de C.V.® México) per kg dietary dry matter (Table 1) and 15 g/kg urea in a replicated 4 x 4 Latin Square design. The diet was offered as a total mixed ration, and ewes were housed in individual cages equipped with feed and water bowls. Feed was provided at 08:00 and 15:00 h. Ewes were adapted to their experimental diets for eight days and the study lasted 52 days (May 9 – June 30, 2014). All ewes had free access to feed to ensure 100 g of orts per kg of the amount fed daily.

Table 1. Experimental diet

0	Natural Zeolite (g/kg)			
	0	20	40	60
<i>Ingredients (% of DM)</i>				
Forage Sorghum	40	40	40	40
Urea	1.5	1.5	1.5	1.5
Soybean Meal	2.1	1.9	2.1	2.12
Ground Sorghum	21.5	18.45	12.22	14.6
Corn Grain	24.1	25.35	29.34	24.9
Cane Molasses	9.3	9.3	9.34	9.38
<i>Minerals and Vitamin</i>				
Premix*	1.5	1.5	1.5	1.5
Natural Zeolite	0	2	4	6
<i>Chemical Composition (% of DMs)</i>				
Dry Matter (%)	90	90	90	90
Crude Protein (%)	13.1	13.1	13.0	13.1
Neutral Detergent Fibre (%)	40.4	42.8	39.1	38.7
Ether Extract (%)	4.2	3.98	3.27	2.87
Ash (%)	7.5	8	9.5	11.65

\*Rumisal®; P, 5.0%; Ca, 13%; Na, 10.9%; Cl, 20.0%; Fe, 0.43%; Mg, 0.33%; Mn, 0.02%; Cu, 0.08%; I, 0.004; Zn, 0.008%.

### *Live weight changes*

The study lasted 52 days. Feed intake was recorded daily, the ewes were weighed at the beginning and the end of each period to estimate average daily gain (ADG) and feed conversion (FC) was expressed as the ratio of feed intake to ADG.

### *Sample collection and analyses*

Feed, faeces, urine and orts were collected during the collection period (four days). Ruminal fluid was obtained (60 mL) via oesophageal tube before, and 4, 8 and 12 h post feeding, and pH was measured immediately with a pH meter (Benchtop Cole Parmer 05669-20, Vernon Hills, IL, USA). Samples were acidified with 1 mL of sulphuric acid (30%) and then frozen at -20 °C until laboratory analysis. Ten millilitres of rumen fluid were prepared with metaphosphoric acid and centrifuged (40,000 × g × 10 min), and the supernatant was used to measure the proportion of volatile fatty acids (VFA) by gas chromatography (Erwin *et al.*, 1961). Ammonia N was measured using the indophenol method (McCullough, 1967). Feed samples were analysed according to AOAC (1990) for dry matter (DM, method number 981.10), crude protein (CP, method number 967.03) and NDF and ADF fractions according to Van Soest *et al.* (1991) with a heat-stable amylase and expressed including residual ash. The Henderson-Hasselbalch equation and ruminal pH were used the amount of ammonia and ammonium to evaluate if zeolites affect NH<sub>4</sub> capture (Abdoun *et al.*, 2007).

## *Metabolisable protein supply (PDIE) and restricted level of ruminally degradable nitrogen (PDIN)*

Protein was estimated with the system of digestible protein in the intestine (PDI), according to INRA (1989), which estimates the value of truly digestible protein in the intestine: 1) PDIN, defined as the amount of digestible protein in the small intestine when energy and other nutrients are not limiting microbial protein synthesis; and 2) PDIE, defined as the amount of digestible protein in the small intestine when rumen degradable nitrogen and other nutrients are limiting for ruminal microorganisms, with the equation described by Ramos *et al.* (1995) estimating the organic matter fermented in the rumen with the in vitro dry matter digestibility and corrected by ether extract content.

### *Statistical analyses*

The results were analysed according to a replicated,  $4 \times 4$  Latin square design (Steel *et al.* 1997). Orthogonal polynomial contrasts were used to test the linear or quadratic effects of zeolite levels on ewe performance, ruminal fermentation and nitrogen metabolism. Variables measured more than once were measured with the repeated measures procedure. The correlations between PDIE, PDIN and productive performance (average daily gain, feed intake and feed conversion) were estimated. Data were analysed with the JMP7 software (Sall and Lehman, 2012).

## **Results**

Dry matter intake and feed conversion were not modified by the natural zeolite level in the diet (Table 2), while daily gain showed a quadratic response ( $P<0.05$ ;

Table 2). The addition of natural zeolite increased the ammonia concentration (linear P<0.05; Table 3) at eight and 12 hours and also increased the ammonium concentration at eight hours (linear effect P<0.05; Table 3). The ruminal pH was increased (linear effect (P<0.05; Table 3) at eight and 12 hours. Acetate and butyrate presented a quadratic response (P<0.01), and total VFA concentration was linearly increased (P<0.01) ruminal liquid (Table 3). Nitrogen retention showed a linear and quadratic response (P<0.05, Table 4), and the PDIE and PDIN estimated fractions showed a linear and quadratic response (P<0.05). The PDIE was positively correlated ( $r = 0.96$ ;  $P \geq 0.03$ ) with average daily gain, while PDIN with NH<sub>3</sub> ( $r = 0.95$ ;  $P = 0.04$ ) and intake were positively related to retained N ( $r = 0.97$ ;  $P = 0.02$ ).

Table 2. Performance of ewes fed different levels of natural zeolite

	Natural Zeolite (g/kg)				SEM	P-value	
	0	20	40	60		Linear	Quadratic
Initial weight (kg)	43.2	42.9	43.6	43.5	0.82	-	-
Final weight (kg)	48.8	49.6	51.5	50.1	0.81	-	-
Intake DM Intake (g/day)	1,628 <sup>b</sup>	1,558 <sup>c</sup>	1,644 <sup>b</sup>	1,895 <sup>a</sup>	14.21	0.21	0.89
Daily live weight gain (g/day)	140	167	197	165	19.14	0.72	0.05
Feed Conversion	11.63 <sup>a</sup>	9.30 <sup>ab</sup>	8.31 <sup>ab</sup>	11.3 <sup>a</sup>	0.71	0.87	0.22

SEM, standard error of the mean; <sup>abc</sup> Means within row with different superscripts differ (P<0.05)

Table 3. Ruminal ammonia nitrogen concentration, pH and volatile fatty acids concentration of ewes fed different levels of natural zeolite

	Natural Zeolite (g/kg)				SEM SEM	<i>P-value</i>	
	0	20	40	60		Linear	Quadratic
NH <sub>3</sub> (mg/dL)							
Before feeding	0.04	0.06 <sup>a</sup>	0.02 <sup>a</sup>	0.05 <sup>a</sup>	0.019	0.94	0.32
4 h post feeding	0.03 <sup>ab</sup>	0.04 <sup>a</sup>	0.02 <sup>b</sup>	0.03 <sup>ab</sup>	0.007	0.80	0.73
8 h post feeding	0.01 <sup>c</sup>	0.02 <sup>bc</sup>	0.04 <sup>a</sup>	0.03 <sup>ab</sup>	0.005	0.01	0.06
12 h post feeding	0.02 <sup>b</sup>	0.04 <sup>ab</sup>	0.05 <sup>a</sup>	0.04 <sup>a</sup>	0.006	0.01	0.03
NH <sub>4</sub>							
Before feeding	6.8	7.2	7.1	8.1	0.83	0.32	0.72
4 h post feeding	5.24 <sup>b</sup>	9.08 <sup>a</sup>	5.55 <sup>b</sup>	6.35 <sup>ab</sup>	0.74	0.95	0.05
8 h post feeding	3.66 <sup>b</sup>	5.08 <sup>ab</sup>	5.86 <sup>a</sup>	6.82 <sup>a</sup>	0.51	0.01	0.67
12 h post feeding	5.80	6.77	5.48	6.44	0.37	0.66	0.88
pH							
Before feeding	6.9 <sup>a</sup>	7.1 <sup>a</sup>	6.7 <sup>b</sup>	7.0 <sup>a</sup>	0.05	0.37	0.04
4 h post feeding	6.5 <sup>a</sup>	6.9 <sup>a</sup>	6.7 <sup>a</sup>	6.9 <sup>a</sup>	0.19	0.21	0.54
8 h post feeding	6.5 <sup>c</sup>	6.7 <sup>ab</sup>	7.0 <sup>a</sup>	6.8 <sup>a</sup>	0.06	0.01	0.05
12 h post feeding	6.7 <sup>b</sup>	6.9 <sup>a</sup>	7.1 <sup>a</sup>	7.0 <sup>a</sup>	0.05	0.06	0.01
VFA (mol/100 mol of total VFA)							
Acetate	64.2 <sup>a</sup>	67.9 <sup>a</sup>	66.0 <sup>a</sup>	63.0 <sup>a</sup>	1.50	0.22	0.01
Butyrate	13.5 <sup>a</sup>	13.9 <sup>a</sup>	14.4 <sup>a</sup>	13.9 <sup>a</sup>	0.30	0.42	0.01
Propionate	22.1 <sup>a</sup>	18.1 <sup>a</sup>	19.5 <sup>a</sup>	22.9 <sup>a</sup>	1.91	0.38	0.37
Total (mmol/L)	37.5 <sup>b</sup>	38.5 <sup>b</sup>	48.5 <sup>a</sup>	50.3 <sup>a</sup>	2.27	0.01	0.70

VFA, volatile fatty acid; SEM, standard error of the mean; NH<sub>3</sub>, ammonia; NH<sub>4</sub>, ammonium; <sup>abc</sup> Means within row with different superscripts differ (*P*<0.05)

Table 4. Nitrogen balance, PDIE and PDIN of diets with different levels of natural zeolite

	Natural Zeolite (g/kg)				SEM	<i>P</i> -value	
	0	20	40	60		Linear	Quadratic
DM intake, g/d.	1628.2 <sup>b</sup>	1558.2 <sup>c</sup>	1644.2 <sup>b</sup>	1895.7 <sup>a</sup>	14.41	0.01	0.01
N intake, g/d.	34.03 <sup>b</sup>	29.99 <sup>c</sup>	34.19 <sup>b</sup>	36.5 <sup>a</sup>	0.29	0.01	0.01
N faeces, g/d.	10.91 <sup>a</sup>	11.63 <sup>a</sup>	10.32 <sup>a</sup>	5.2 <sup>b</sup>	0.92	0.01	0.01
N urine, g/d.	1.52	1.52	1.94	1.8	0.21	0.14	0.70
N retained, g/d.	21.58 <sup>b</sup>	16.83 <sup>c</sup>	21.93 <sup>b</sup>	29.4 <sup>a</sup>	0.87	0.01	0.01
<b>PDI</b>							
PDIA, g/kg.	13.65 <sup>a</sup>	32.29 <sup>a</sup>	28.60 <sup>c</sup>	34.45 <sup>b</sup>	10.70	0.01	0.05
PDIMN, g/kg.	45.30 <sup>b</sup>	44.31 <sup>a</sup>	41.29 <sup>a</sup>	41.81 <sup>a</sup>	10.56	0.25	0.75
PDIME, g/kg.	37.11 <sup>a</sup>	36.22 <sup>a</sup>	34.03 <sup>a</sup>	33.03 <sup>a</sup>	4.75	0.10	0.97
PDIN, g/kg.	58.95 <sup>c</sup>	76.61 <sup>a</sup>	69.89 <sup>b</sup>	76.26 <sup>a</sup>	0.13	0.01	0.01
PDIE, g/kg.	50.76 <sup>c</sup>	68.51 <sup>a</sup>	62.64 <sup>b</sup>	67.49 <sup>a</sup>	1.30	0.01	0.01

SEM, standard error of the mean; PDIE, PDIN: Protein digestible in the small intestine when rumen fermentable energy or nitrogen, respectively, are limiting.

## Discussion

The use of natural zeolite had no effect on DM intake (Table 2) as observed in previous studies using natural zeolite or synthetic zeolite (Sherwood *et al.*, 2006; Cole *et al.*, 2007; Dschaak *et al.*, 2010). Johnson *et al.* (1988) reported that lactating

dairy cows decreased feed intake when synthetic zeolite was added at 20 g/kg, which is a low dose if it is expressed as a proportion of DM or by metabolic weight.

The natural zeolites with urea showed a quadratic response in ADG, with the maximum gain with 40 g/kg. Pond (1984) reported that only when clinoptilolite was added at 20 g/kg dietary DM did it promote growth of lambs. In that experiment a positive response was observed with 40 g/kg DM, however even when this was associated with a decrease in ruminal ammonia concentration (Sadeghi and Shawrang, 2006), results from this experiment did not show any beneficial effect on ammonia or ammonium concentrations. The unique benefit of zeolites in rumen fermentation can be associated with a higher pH that stimulates fibrolytic bacteria, which is reflected in the acetate concentration (Pan *et al.*, 2003). The higher pH could be related to the high ammonia concentration; when urea is administered, the pH can increase rapidly in the rumen (Abdoun *et al.*, 2007). This contrasts other hypotheses regarding the mechanisms of action of zeolites.

Deligiannis *et al.* (2005) used a natural zeolite in growing lambs infected with gastrointestinal nematodes and found that natural zeolite reduced the establishment of the nematodes and resulted in differences in ADG and DM intake. Since in this study ewes were dewormed, the explanation for the increased digestibility. Although, Grabherr *et al.* (2009) added zeolite at 0, 10 and 20 g/kg dry matter (DM) in cows and observed that supplementation led to a significantly reduced ruminal DM and organic matter digestibility, which was also reported by other authors (Johnson *et al.*, 1988; Cole *et al.*, 2005; Dschaak *et al.*, 2010).

Rumen ammonia and ammonium concentrations in the first hours were not affected by the addition of natural zeolite, but after eight and 12 hours, the concentrations of both increased. This contrasts with the results from Kardaya *et al.* (2012) who reported that lambs fed diets without urea, zeolite, or urea-impregnated zeolite rations produced similar ruminal ammonia concentrations and from Montalvo *et al.* (2005) who reported that zeolite could reduce the concentration of free ammonia ( $\text{NH}_3$ ) in the supernatant of the anaerobic digestion process of synthetic and piggery wastes which may be different in the anaerobic conditions in the rumen.

Sadeghi and Shawrang (2010) reported low levels in steers that received 30 g/kg of natural zeolite and 20 g/kg of urea at 0, 2.5 and 5.5 hours post-feeding. Stephenson and Huff (1992) reported that natural zeolites could function as ammonia reserves in the rumen and could increase dietary nitrogen utilisation. Through infrared spectroscopy, Michael *et al.* (1991) showed that the naturally occurring zeolite can absorb urea under aerobic conditions from either aqueous or ethanolic solutions. However, that does not mean it can function in the same way in the rumen.

All ruminal pH values in the present study were in the normal range of 6.5 to 7, where most of the ammonia would be present in the form of  $\text{NH}_4^+$  as reported by Abdoun *et al.* (2007). Higher ruminal pH values as a result of zeolite treatment could be due to high ruminal ammonia as a result of rapid urea hydrolysis in the rumen. The increase in ruminal pH as a result of the increase in ruminal ammonia nitrogen was also demonstrated by Pan *et al.* (2003). However, this was in contrast with Kardaya *et al.* (2012) who found that the addition of zeolite decreased ruminal pH,

which indicated that zeolite was able to sink ammonia through its cation exchange capacity.

The total VFA concentration tended to increase ( $P=0.01$ ) when the ewes were fed with natural zeolite, whereas molar proportions of acetate and butyrate increased quadratically by dietary treatment. Higher acetate concentrations in lambs fed urea rations were associated with its higher ammonia concentration and its higher pH value. This finding is fairly in agreement with Pan *et al.* (2003) who revealed that increases in ruminal ammonia N might increase ruminal pH and total VFAs, and stimulate cellulolytic bacteria activity in the rumen. Dschaak *et al.* (2010) observed that the inclusion of zeolite in the diet of lactating dairy cows decreased total VFA. However, Bosi *et al.* (2002) observed that the inclusion of zeolite in the diet of lactating dairy cows had no effect on the concentration and molar proportion of VFA.

The concentration of  $\text{NH}_3\text{-N}$  in the rumen is an indicator of the rate of ruminal N degradation, the concentration of rumen-degraded N above microbial needs, and the amount of dietary energy available for the ruminal microorganisms (Li *et al.*, 2011). Increased consumption of NDF can decrease ruminal ammonia concentrations (Royes *et al.*, 2001) for greater microbial protein synthesis (MPS) and concurrent higher demand for rumen degradable protein. Lizarazo *et al.* (2014) reported that sheep feed with diet were use of coated urea did not affect the urinary and faecal N excretion or the retained N. There were no changes in the efficiency utilisation of the N body among treatments. In contrast, we found that treatments of urea + zeolite decreased faecal N and increased N retention. Furthermore, N can be recycled by ruminants to compensate for differences in the release time of N in the

rumen (Reynolds and Kristensen, 2008). It is now well established that nitrogen retention depends on the intake of nitrogen and the amount of fermentable carbohydrate in the diet (Sarwar *et al.*, 2003). However, Sherwood *et al.* (2006) found that nitrogen mass balance was not affected by the addition of zeolite clay in steers fed with 12 g zeolite per kg. Research with other species has shown zeolite clay to be effective in adsorbing N, thus having the ability to reduce N volatilisation losses. The lack of a response to zeolite in the current study could be due to variations in clays used and the methodology for assessing N losses. Also, zeolite clay may not have the cation exchange potential needed for the conditions in open pens versus confinement conditions (Sherwood *et al.*, 2006).

The PDIE value was also higher for zeolite treatments. Tabulated PDI values of the diets calculated from *in vitro* data have to be increased by the addition of zeolite. Thus, the nutrients available for the protein synthesis of rumen micro-organisms probably led to similar levels of amino acids as the intestines (Giger-Reverdina *et al.*, 2015), whereas in this study, PDIN was greater than the PDIE indicating that dietary rumen degradable N was suitable, which could explain the high correlation ( $r = 0.96$ ;  $P = 0.03$ ) between PDIE and daily live weight gain.

It is concluded that the inclusion of 20 to 40 g/kg zeolite in the diet had a positive effect on the average daily gain, ruminal fermentation patterns and PDIE estimated, but more research is necessary to determine the mechanisms of action in the rumen.

## References

- Abdoun K, Stumpff F, Martens H (2007) Ammonia and urea transport across the rumen epithelium: a review. *Animal Health Research Reviews* **7**, 43-59.
- AOAC, 1990. Official Methods of Analysis, 16th ed. Association of Official Analytical Chemists. The William Byrd Press Inc., Richmond, VA.
- Bartley EE, Avery TB, Nagaraja TG, Watt BR, Davidovich A, Galitzer S, Lassman B (1981) Ammonia toxicity in cattle. V. Ammonia concentration of lymph and portal, carotid and jugular blood after the ingestion of urea. *Journal of Animal Science* **53**, 494–498.
- Bosi P, Creston D, Casini L (2002) Production performance of dairy cows after the dietary addition of clinoptilolite. *Italian Journal of Animal Science* **1**, 187.
- Broderick GA, Stevenson MJ, Patton RA (2009) Effect of dietary protein concentration and degradability on response to rumen-protected methionine in lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science* **92**, 2719–2728.
- Calsamiglia S, Ferret A, Reynolds CK, Kristensen NB, Van Vuuren AM (2010) Strategies for optimizing nitrogen use by ruminants. *Animal* **4**, 1184–1196.
- Cole NA, Clark RN, Todd RW, Richardson CR, Gueye A, Greene LW, McBride K, (2005) Influence of dietary crude protein concentration and source on potential ammonia emissions from beef cattle manure. *Journal of Animal Science* **83**, 722.

Deligiannis K, Lainas Th, Arsenos G, Papadopoulos E, Fortomaris P, Kufidis D, Stamataris C, Zygogiannis D (2005) The effect of feeding clinoptilolite on food intake and performance of growing lambs infected or not with gastrointestinal nematodes. *Livestock Production Science* **96**, 195–203.

Dschaak CM, Eun JS, Young AJ, Stott RD, Peterson S (2010) Effects of supplementation of natural zeolite on intake, digestion, ruminal fermentation, and lactational performance of dairy cows. *Professional Animal Scientist* **26**, 647–654.

Erwin ES, Marco GJ, Emery E (1961) Volatile fatty acid analysis of blood and rumen fluid by gas chromatography. *Journal of Dairy Science* **44**, 1768-1776.

Giger-Reverdina S, Maaroufia C, Peyronnet C, Sauvant D (2015) Effects of particle size and dietary nitrogen content on the nutritive value of pea-based diets in mid-lactation goats. *Animal Feed Science and Technology* **210**, 56–65.

Grabherr H, Spolders M, Fürll M, Flachowsky G (2009) Effect of several doses of zeolite A on feed intake, energy metabolism and on mineral metabolism in dairy cows around calving. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition* **93** (2):221-36.

INRA (2010) Tableaux de la valeur des aliments Alimentation des bovins, ovins et caprins. Besoins des animaux – Valeurs des aliments. Tables INRA 2007, mise à jour 2010 (Nutrition of cattle, sheep and goats: animal needs – values of feeds. INRA Tables 2007. Revision in 2010). Quae, Versailles Cedex, France, pp. 188–290.

Johnson MA, Sweeney TF, Muller LD (1988) Effects of feeding synthetic zeolite A and sodium bicarbonate on milk production nutrient digestion, and rate of digesta passage in dairy cows. *Journal of Dairy Science* **71**, 946.

Kardaya D, Sudrajat D, Dihansih E (2012) Efficacy of dietary urea-impregnated zeolite in improving rumen fermentation characteristics of local lamb. DOI: 10.5398/medpet.2012.35.3.207.

Li Q, Gao Y, Cao Y, Feng Z, Li J (2011) Effects of rumen-degradable protein balance on rumen fermentation in continuous culture fermenters. *Frontiers of Agriculture in China* **5**(4), 598-604.

Lizarazo AC, Mendoza GD, Kú J, Melgoza LM, Crosby M (2014) Effects of slow-release urea and molasses on ruminal metabolism of lambs fed with low-quality tropical forage. *Small Ruminant Research* **116**, 28–31.

McCollum FT, Galyean ML (1983) Effects of clinoptilolite on rumen fermentation, digestion and feedlot performance in beef steers fed high concentrate diets. *Journal of Animal Science* **56**, 517-524.

McCullough H (1967) The determination of ammonia in whole blood by direct colorimetric method. *Clinica Chéamical Acta* **17**, 297-298.

Michael BD, Gerasimowicz WV, Stockette M, Eberl DD (1991) Infrared spectroscopic examination of the interaction of urea with the naturally occurring zeolite clinoptilolite. *The Microchemical Journal* **44**, 130-139.

Montalvo S, Daz F, Guerrero L, Sanchez E, Borj R (2005) Effect of particle size and doses of zeolite addition on anaerobic digestion processes of synthetic and piggery wastes. *Process Biochemistry* **40**, 1475-1481.

Pan J, Suzuki T, Koike S, Ueda K, Kobayashi Y (2003) Effect of urea infusion into the rumen on liquid-and particle associated fibrolytic enzyme activities in steers fed low quality grass hay. *Animal Feed Science and Technology* **104**, 13-27.

Pond WG (1984) Response of growing lambs to clinoptilolite or zeolite NaA added to corn, corn-fish meal and corn-soybean meal diets. *Journal of Animal Science* **59**, 1320 – 1328.

Ramos JA, Mendoza MG, Aranda IE, García BC, Bárcena GR (1995) Caracterización del nitrógeno del pasto estrella con dos sistemas: proteína metabolizable y proteína cruda digestible. *Revista de la Facultad de Agronomía del Zulia* **12** (2):209-220 (Eng. Abstr.).

Reynolds SM, Kristensen NB (2008) Nitrogen recycling through the gut and the nitrogen economy of ruminants: an asynchronous symbiosis. *Journal of Animal Science* **86** (E. Suppl.), E293–E305.

Royes JB, Brown WF, Martin FG, Bates DB (2001) Source and level of energy supplementation for yearling cattle fed ammoniated hay. *Journal of Animal Science* **79**(5), 1313–1321.

Ruiz O, Castillo Y, Miranda MT, Elías A, Arzola C, Rodríguez C, La O (2007) Levels of zeolite and their effects on the rumen fermentation of sheep fed alfalfa hay and concentrate. *Cuban Journal of Agricultural Science* **41** (3), 241-245.

Sadeghi AA, Shawrang P (2006) The effect of natural zeolite on nutrient digestibility, carcass traits and performance of Holstein steers given a diet containing urea. *Animal Science* **82**, pp 163-167.

Sall J, Lehman A, Stephens M, Creighton L (2012) JMP® Start Statistics: A Guide to Statistics and Data Analysis. SAS Institute Inc: Cary, NC, USA.

Sarwar M, Ajmal Khan M, Mahr-un-Nisa (2003) Nitrogen retention and chemical composition of urea treated wheat straw ensiled with organic acids or fermentable carbohydrate. *Asian-Australian Journal of Animal Science* **16**:1583–1592.

Sherwood DM, Erickson GE, Klopfenstein TJ (2006a). Nitrogen mass balance and cattle performance of steers fed clinoptilolite zeolite clay. p. 90 in Nebraska Beef Report, Univ. Nebraska, Lincoln.

Sherwood DM, Erickson GE, Klopfenstein TJ (2006b) Nitrogen Mass Balance and Cattle Performance of Steers Fed Clinoptilolite Zeolite Clay". Nebraska Beef Cattle Reports. Paper 134. <http://digitalcommons.unl.edu/animalscinbcr/134>.

Steel GDR, Torrie JH, Dickey DA (1997) Principles and procedures of statistics, A biometrical approach. Edn. (McGraw-Hill, New York, USA).

Stephenson RGA, Huff JL (1992) Effect of molasses, sodium bentonite and zeolite on urea toxicity. *Australian Journal of Agricultural Research* **43**, 301-310.

Sweeney TF, Bull LS, Hemken RW (1980) Effect of zeolite as a feed additive on growth performance in ruminants. *Journal of Animal Science* **51**(Suppl.1):401.

Van Soest PJ, Robertson JB, Lewis BA (1991) Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. *Journal of Dairy Science* **74**, 3583–3597.

White JL, Ohlrogge AJ (1974) Ion exchange materials to increase consumption of non-protein nitrogen in ruminants. Canadian patent number 939186.

## **INDICE DE ANEXOS**

ANEXO I.- Carta de aceptación en el Instituto de Investigación en Ciencias Veterinarias, perteneciente a la Universidad Autónoma de Baja California.

ANEXO II.- Programa de actividades en el Instituto de Investigación en Ciencias Veterinarias, perteneciente a la Universidad Autónoma de Baja California.

ANEXO III.- Formato de Informe de Actividades realizadas, Beca Mixta N° 291061.

ANEXO IV.- Carta de transferencia de tecnología a productor.

## Anexo I

### Universidad Autónoma de Baja California

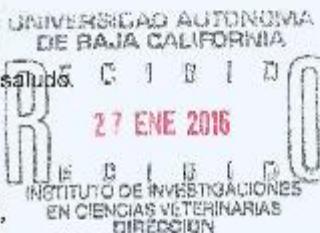
#### INSTITUTO DE INVESTIGACIONES EN CIENCIAS VETERINARIAS

Asunto: solicitud de estancia  
Oficio No. 119/2015-1

Dr. Víctor Manuel González Vizcarra  
Director del I.I.C.V.  
Presente.

Adjunto al presente le envío para su conocimiento y aceptación la solicitud de estancia de investigación del estudiante I.A.Z. José Alejandro Roque Jiménez perteneciente a la Maestría en Producción de Pequeños Rumiantes con línea de Investigación en Nutrición Animal de la Universidad Autónoma de San Luis Potosí con matrícula 0173163.

El estudiante Roque Jiménez solicita la estancia de investigación la cual será financiada por el CONACYT y estará en este Instituto bajo la supervisión del Dr. Alejandro Plascencia Jorquera líder del Cuerpo Académico de Producción de Proteína de Origen Animal, en el periodo comprendido del 10 de marzo al 10 de julio de 2016 se anexa cronograma de trabajo.



Sin otro particular por el momento, le envío un cordial saludo.  
ATENTAMENTE  
Mexicali, B. C., a 27 de enero de 2016  
"Por la Realización Plena del Hombre"

Dra Olga Maritza Manríquez Núñez  
Encargada de Movilidad Docente y Estudiantil-IICV

C.c.p.- M.C. Ramón Manuel Valenzuela Padilla.- Coordinador de Posgrado e Investigación IICV.  
C.c.p.- Dr. Alejandro Plascencia Jorquera.- Líder del C.A. de P.P.O.A.  
C.c.p.- Dra. Olga Maritza Manríquez Núñez.- Coordinadora de la Maestría en Ciencias Veterinarias  
C.c.p.- Expediente  
OMVN

## Anexo II

### PROGRAMA

Estudiante: José Alejandro Roque Jiménez

Nivel: Maestría

Período: 10 de marzo a 10 de Julio de 2016

Cronograma:

Fase	Actividad				
Entrenamiento	Marzo	Abril	Mayo	Junio	Julio
Experimento de digestión y Metabolismo Breve descripción: Cuatro novillos canulados en rumen y duodeno se utilizarán en un diseño de cuadrado latino 4x4 para evaluar el efecto de tratamientos sobre sitio de digestión de nutrientes y de fermentación ruminal	Participación en la canulación de animales; cuidados post-quirúrgicos, preparación de dietas experimentales, alimentación de animales en periodo de adaptación	Cuidados de animales canulados bajo experimentación, alimentación y procedimientos de muestreo de alimento, rumen, duodeno y heces	Cuidados de animales canulados bajo experimentación, alimentación y procedimientos de muestreo de alimento, rumen, duodeno y heces	Preparación, envase, identificación y conservación de muestras para envío a laboratorio	Visita a la estación experimental de ganado de engorda del desierto de la UC Davis
Teórica	Cursos:  Principios y procedimientos aplicados a las pruebas de digestión en animales canulados para disminuir la variación en las muestras generadas (duración 10 h totales)	Aspectos cuantitativos de nutrición de rumiantes (uso de marcadores externos para cuantificación de nutrientes en TGI) (duración 40 horas totales)	Aspectos cuantitativos de nutrición de rumiantes (uso de marcadores externos para cuantificación de nutrientes en TGI)	Aspectos cuantitativos de nutrición de rumiantes (uso de marcadores externos para cuantificación de nutrientes en TGI)	

Productos: Constancia de cursos y en el momento de generar alguna publicación el estudiante se listará como coautor

Enero 26 del 2016



Dr. Alejandro Plascencia Jorquera  
Tutor de estancia IICV-UABC

Dr. Héctor Lee Rangel  
Tutor principal, UASLP

### Anexo III

 CONACYT

**FORMATO DE INFORME DE ACTIVIDADES REALIZADAS  
BECA MIXTA**

Nombre del becario: <b>Roque Jiménez</b>	Apellido Paterno	Apellido Materno	Nombre(s)
No. de becario: <b>290915</b>	CVU: <b>634168</b>	Grado: <b>Maestría</b>	
Institución Origen: <b>Facultad de Agronomía y Veterinaria, UASLP</b>			
Nombre del Programa de Posgrado <b>Maestría en Producción Agropecuaria</b>			
Institución Destino <b>Instituto de Investigaciones en Ciencias Veterinarias, Universidad Autónoma de Baja California.</b> País: <b>México</b>			
Modalidad : <b>Nacional</b>	Movilidad nacional	En los sectores de Interés En el país      En el extranjero	Programas de Doble Titulación
Periodo de la Beca Mixta :	De: <b>01/03/2016</b> dd / mm / aaaa	A: <b>30/06/2016</b> dd / mm / aaaa	

**Actividades Realizadas (elegir una opción de calificación):**

Desempeño Académico	Satisfactorio <input checked="" type="checkbox"/>	No Satisfactorio <input type="checkbox"/>
Cumplimiento del plan de trabajo presentado	Sí cumplió <input checked="" type="checkbox"/>	No cumplió <input type="checkbox"/>
Cumplió con el objetivo de la Beca Mixta	Sí <input checked="" type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>

Comentarios sobre la evaluación: *El estudiante mostró gran disposición y responsabilidad en las tareas encomendadas y goza de formación académica y competente en las actividades desarrolladas*

**Dr. José Pablo Lara Ávila**  
Vo. Bo. Del Coordinador Académico de Posgrado

**Dr. Alejandro Plascencia Jorquera**  
Nombre y firma del Co-tutor

  
FACULTAD DE AGRONOMÍA  
Y VETERINARIA  
COORDINACIÓN DE POSGRADO

**Dr. Héctor Aaron Les Rangel**  
Nombre y firma del Tutor

**I.A.Z. José Alejandro Roque**  
Nombre y firma del Becario

Fecha de evaluación: **01/07/ 2016**  
dd mm aaaa

## Anexo IV



San Luis Potosí, S.L.P. a 05 de julio del 2016.

A quien corresponda

PRESENTE

Por este medio hago constar que el alumno de Maestría en Producción Agropecuaria en Pequeños Rumiantes de la Benemérita Universidad Autónoma de San Luis Potosí I.A.Z. José Alejandro Roque Jiménez con número de matrícula 0173163, llevó a cabo un trabajo de investigación con el material zeolita (Clinoptilolita) propiedad de la empresa SEMIKAM, S.A. de C.V., entregándome toda la documentación que ampara dicha investigación que lleva por título “EFFECTO DEL MINERAL ZEOLITA NATURAL EN NITRÓGENO DE LENTA LIBERACIÓN EN OVEJAS RAMBOUILLET”, el cual contiene una revisión de literatura sobre antecedentes de uso de zeolita, un artículo científico donde se mencionan los tratamientos, materiales y métodos, resultados, discusión y conclusiones. Este material informativo es entregado como requisito de obtención de grado.

Se extiende la presente para los fines y usos legales del interesado a que haya lugar, en el municipio de San Luis Potosí, S.L.P., a los cinco días del mes de julio de dos mil diecisésis.

Atentamente:

Ing. Enrique Gasca González

SEMIKAM, S.A. de C.V.

Periférico Norte Km. 20  
Fracc. Rural Los Magueyes  
Tel. 01 (444) 8 23 43 42  
email: gasglez@yahoo.com.mx