

COLEGIO DE POSTGRADUADOS

INSTITUCIÓN DE ENSEÑANZA E INVESTIGACIÓN EN CIENCIAS AGRÍCOLAS

CAMPUS MONTECILLO

**EVALUACIÓN DE ENVASES DE POLIETILENTEREFTALATO COMO
FUENTE DE FIBRA EN DIETAS PARA OVINOS**

MIGUEL ÁNGEL MATA ESPINOSA

T E S I S
PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL
PARA OBTENER EL GRADO DE:

DOCTOR EN CIENCIAS

MONTECILLO, TEXCOCO, EDO. DE MÉXICO

2009

AGRADECIMIENTOS

Al pueblo trabajador de México que, gracias al pago de sus contribuciones, es pilar de las Instituciones de Enseñanza e Investigación y que a través del Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) y el Colegio de Postgraduados, han apoyado en gran parte mi formación académica.

A los Doctores Mario Cobos, David Hernández, Efrén Ramírez, Ronald Ferrera, Miguel Ángel Martínez, y a la Dra. Ma. Esther Ortega, integrantes de mi Consejo Particular por todo el tiempo y esfuerzo dedicado a la realización y revisión de esta investigación y sobre todo por la gran amistad que hemos conservado.

Todos los profesores que intervinieron en mi formación, compañeros y amigos de programa y de generación, así como a todas aquéllas personas que me apoyaron de alguna forma para culminar con esta etapa de mi formación profesional. De la misma forma quiero expresar mi agradecimiento a todas las personas con las cuales tuve el gusto de convivir y trabajar en el laboratorio de Microbiología Ruminal y más particularmente a Agustín Hernández Romero, Jefe del Laboratorio.

DEDICATORIA

Mis padres (Ángel y Silvia) por haberme forjado como una persona responsable y comprometida para afrontar situaciones de cualquier índole en la vida.

A Ma. Concepción y Leonardo, quienes me han enseñado y demostrado que cuando existe el deseo de seguir en esta vida y triunfar, se puede lograr la meta aún en contra de muchas adversidades.

A mis hermanos (José, Héctor, Juan, Ramiro, Óscar) y hermanas (Ma. Del Carmen, Ma. Concepción, Silvia, Fátima) de quienes he aprendido y recibido mucho apoyo y aliciente para seguir adelante.

A mis tíos José Esteban y Juan que siempre me han apoyado en las cosas que he emprendido.

Muy especialmente a mi esposa Margarita Santoyo, quien ha sido el cimiento fundamental para lograr lo que hasta ahora he realizado, y quien se ha dedicado en mayor parte a la educación de nuestros hijos de una forma responsable y ejemplar. Gracias por todo tu apoyo y espero que sigamos forjando nuestro futuro juntos.

A mis hijos Cassandra, Miguel y Eberth, espero que el esfuerzo realizado para lograr una meta más en la vida sirva de ejemplo y que sea recompensado el tiempo que no estuve con ustedes durante la realización de mis estudios.

Finalmente agradezco a la Familia Santoyo (José, Juan, María, Francisca, Carmela[†]) de quien siempre he tenido apoyo incondicional.

CONTENIDO

	Pág.
RESUMEN.....	1
ABSTRACT.....	2
INTRODUCCIÓN.....	3
REVISIÓN DE LITERATURA.....	6
Generalidades de los plásticos.....	6
Propiedades y características de los plásticos.....	7
Producción de los plásticos.....	7
Composición y estructura química del polietilentereftalato	8
Principales usos y problemas de la contaminación ambiental del polietilentereftalato	9
Degradación del ácido tereftálico.....	10
Bacterias aerobias que degradan ácido tereftálico.....	12
Principales bacterias anaerobias que degradan ácido tereftálico.....	14
Degradación de ácido tereftálico en condiciones mesofílicas.....	15
Degradación de ácido tereftálico en condiciones termofílicas.....	22
Reciclado de desechos de fibras de polietilentereftalato.....	25
Métodos físicos.....	25
Métodos químicos.....	26
Métodos termomecánicos.....	26
Degradación microbiana de compuestos aromáticos naturales (lignina) en ecosistemas anaerobios.....	27
Degradación de fenoles en el rumen.....	29

Fibra y sustitutos de fibra en dietas para rumiantes.....	32
OBJETIVO.....	34
HIPÓTESIS.....	34
MATERIALES Y MÉTODOS.....	35
Análisis químico de las dietas.....	35
Animales.....	35
Dietas experimentales.....	36
Molido de las botellas de polietilentereftalato.....	36
Tratamientos experimentales.....	36
Muestreo de líquido ruminal.....	38
Variables evaluadas.....	38
Consumo y rechazo de alimento.....	38
Cambios de peso vivo.....	38
Eficiencia alimenticia.....	39
Digestibilidad aparente de materia seca de las dietas mediante colecta total de heces.....	39
Cantidad de PET en excretas.....	39
Digestibilidad aparente de materia seca mediante cenizas insolubles en ácido (CIA).....	40
Digestibilidad aparente de PET.....	41
Retención de PET.....	41
pH ruminal.....	41
Concentración de nitrógeno amoniacal.....	41

Concentración de ácidos grasos volátiles.....	42
Concentración de bacterias ruminales totales.....	43
Concentración de bacterias celulolíticas ruminales.....	43
Concentración de protozoarios ruminales totales.....	45
Diseño experimental y análisis estadístico.....	45
RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	47
Análisis químico de las dietas.....	47
Consumo de materia seca.....	48
Ganancia diaria de peso.....	49
Eficiencia alimenticia.....	52
Digestibilidad aparente de las dietas.....	53
pH ruminal.....	56
Proporción molar de ácidos grasos volátiles (AGV).....	59
Concentración de nitrógeno amoniacal.....	63
Concentración de bacterias ruminales totales.....	65
Concentración de bacterias celulolíticas ruminales.....	66
Concentración de protozoarios ruminales totales.....	68
PET recuperado en heces.....	70
PET retenido.....	72
Digestibilidad aparente de la materia seca de PET.....	74
CONCLUSIONES.....	76
RECOMENDACIONES.....	78
LITERATURA CITADA.....	79

ÍNDICE DE CUADROS

	Pág.
Cuadro 1. Composición y nutrientes de las dietas experimentales (% BS) de cada tratamiento (T).....	37
Cuadro 2. Composición del medio de cultivo para el conteo de bacterias celulolíticas.....	44
Cuadro 3. Análisis bromatológico de las dietas experimentales a base de polietilentereftalato (PET) (% MS).....	48
Cuadro 4. Consumo de materia seca ($\text{kg animal}^{-1} \text{d}^{-1}$) de borregos alimentados con diferentes cantidades de PET.....	49
Cuadro 5. Ganancia de peso ($\text{g animal}^{-1} \text{d}^{-1}$) de borregos alimentados con diferentes cantidades de PET.....	51
Cuadro 6. Eficiencia alimenticia (GDP/CMS) de borregos alimentados con diferentes cantidades de PET.....	53
Cuadro 7. Digestibilidad aparente (colecta total de heces, %) de la dieta en borregos alimentados con diferentes cantidades de PET.....	54
Cuadro 8. Digestibilidad aparente (CIA; %) de la dieta en borregos alimentados con diferentes cantidades de PET.....	56
Cuadro 9. pH del líquido ruminal extraído 3 h después de la alimentación a borregos alimentados con diferentes cantidades de PET.....	58

Cuadro 10. Concentración (mM) de ácidos grasos volátiles en líquido ruminal de borregos alimentados con diferentes cantidades de PET.....	62
Cuadro 11. Concentración de nitrógeno amoniacal (mg dL^{-1}) en líquido ruminal de borregos alimentados con diferentes cantidades de PET.....	65
Cuadro 12. Concentración de bacterias totales (10^{10} mL^{-1}) en líquido ruminal de borregos alimentados con diferentes cantidades de PET.....	66
Cuadro 13. Concentración de bacterias celulolíticas (10^7 mL^{-1}) en líquido ruminal de borregos alimentados con diferentes cantidades de PET.....	68
Cuadro 14. Concentración de protozoarios (10^5 mL^{-1}) en líquido ruminal de borregos alimentados con diferentes cantidades de PET.....	70
Cuadro 15. Cantidad de PET recuperado (%) de excretas de borregos alimentados con diferentes cantidades de PET.....	72
Cuadro 16. Cantidad de PET retenido (g) en borregos alimentados con diferentes cantidades de PET.....	74
Cuadro 17. Digestibilidad aparente del PET (%) de borregos alimentados con dietas que incluían diferentes cantidades de PET.....	75

ÍNDICE DE FIGURAS

	Pág.
Figura 1. Proceso para la obtención de PET.....	8
Figura 2. Ruta catabólica de varios compuestos aromáticos en <i>Comamonas testosteroni</i>	14
Figura 3. Degradación anaerobia del ácido tereftálico.....	19

EVALUACIÓN DE ENVASES DE POLIETILENTEREFTALATO COMO FUENTE DE FIBRA EN DIETAS PARA RUMIANTES

Miguel Ángel Mata Espinosa, Dr.

Colegio de Postgraduados, 2009

RESUMEN

Esta investigación tuvo como objetivo evaluar el potencial de envases de polietilentereftalato (PET) molido como fuente de fibra en dietas para ovinos en engorda, en sustitución de rastrojo de maíz. El estudio tuvo una duración de 60 d con 10 d de adaptación. Se utilizaron 30 borregos machos con un peso vivo promedio de 24.87 ± 1.7 kg alojados en jaulas individuales. Los tratamientos (T) incluyeron tres niveles de envases de PET molido en la dieta (en base a MS): T1 = 0 %, T2 = 10 % y T3 = 20 %. Las variables medidas fueron: ganancia diaria de peso (GDP), consumo de materia seca (CMS), digestibilidad *in vivo* de materia seca (DIVMS), conversión alimenticia (CA), PET en heces (PET_h) y digestibilidad *in vivo* de materia seca del PET (DIVMSPET). En el líquido ruminal de los borregos se midió: pH, concentración de ácidos grasos volátiles (AGV), nitrógeno amoniacal (N-NH₃), concentración de bacterias totales, celulolíticas y protozoarios. Para el análisis de los datos se usó un diseño completamente al azar con tres tratamientos y diez repeticiones. Para evaluar el efecto del tiempo se utilizó el procedimiento MIXED (SAS, 1999). La concentración de bacterias celulolíticas se analizó estadísticamente mediante intervalos de confianza. No se observaron diferencias ($P > 0.05$) en CMS y EA. Mientras que, la GDP fue mayor ($P \leq 0.05$) en los borregos alimentados con 10 % de PET (214 g) en comparación con los borregos alimentados con la dieta testigo (202 g) y los alimentados con 20 % de PET (193 g). La concentración promedio de AGV fue similar ($P > 0.05$) entre tratamientos, mientras que, la concentración de N-NH₃ aumentó ($P \leq 0.05$) en los T2 y T3, debido al incremento en la adición de urea en la dieta. El pH ruminal y la concentración de bacterias totales y celulolíticas fue similar ($P > 0.05$) entre tratamientos. Únicamente, la concentración de protozoarios fue menor ($P \leq 0.05$) en el rumen de los ovinos alimentados con 20 % de PET. La inclusión de PET (T2 y T3) disminuyó ($P \leq 0.05$) la DIVMS de las dietas y aumentó el contenido de PET en heces (PET_h), aunque, no hubo diferencias ($P > 0.05$) en la DIVMSPET. Se concluye que es posible usar hasta 10 % de PET en sustitución de rastrojo de maíz como fuente de fibra en dietas para ovinos, sin efecto negativo en la eficiencia productiva de los animales, y variables fermentativas y microbiológicas del rumen.

Palabras clave: Ovinos, PET, fermentación ruminal, bacterias ruminales.

EVALUATION OF POLYETHYLENE TEREPHTHALATE BOTTLES AS A SOURCE OF FIBER IN DIETS FOR RUMINANTS

Miguel Ángel Mata Espinosa, Ph. D.

Colegio de Postgraduados, 2009

ABSTRACT

The main objective of this research was to evaluate the potential of ground polyethylene terephthalate bottles (PET) as a source of fiber in diets for growing lambs, in replacement of corn stover. The study took place during 60 d, with 10 d of adaptation period. Thirty male lambs with an average body weight of 24.87 ± 1.7 kg, allotted in individual pens were used. Treatments (T) including three levels of ground PET bottles in the diet (DM bases); T1 = 0 %, T2 = 10 %, and T3 = 20 %. The measured variables were: daily weight gain (DWG), dry matter intake (DMI), *in vivo* dry matter digestibility (IVDMD), feed efficiency (FE), PET in feces (PETf) and *in vivo* PET-dry matter digestibility (IVPET:DMD). In the lambs' rumen fluid was measured: pH, VFA, ammonia (N-NH₃), total and cellulolytic rumen bacteria, and protozoa. The data were statistically analyzed in a completely randomized design with three treatments and ten replications. The effect of time was evaluated using the MIXED procedure of SAS (1999). The cellulolytic bacteria concentration data were statistically analyzed by confidence intervals. No differences ($P > 0.05$) were detected on DMI and FE, but the DWG was highest ($P \leq 0.05$) in the lambs fed 10 % PET compared with the lambs fed the control diet (202 g) and those fed 20 % PET (193 g). The average VFA concentration was similar ($P > 0.05$) among treatments, while the N-NH₃ concentration was higher ($P \leq 0.05$) on T2 and T3, due to the input of urea to these diets. The pH, and the total and cellulolytic bacteria was similar ($P > 0.05$) among treatments. Only, the protozoa concentration was lowest ($P \leq 0.05$) in the rumen of lambs fed 20 % PET. The addition of PET to the diet (T2 and T3) decreased ($P \leq 0.05$) the diet's IVDMD and increased ($P \leq 0.05$) the PET content in feces (PETf), however, no differences ($P > 0.05$) were observed on the IVPET-DMD among treatments. It is concluded that, to use of PET (up to 10 %) on replacement of corn stover as a source of fiber in lambs' diets is likely, without a negative effect on the animal's productive efficiency, and rumen fermentative and microbial variables.

Key words: Lambs, PET, rumen fermentation, rumen bacteria.

INTRODUCCIÓN

La producción mundial de plásticos es mayor a 78 millones de toneladas por año; casi la mitad es desechada en poco tiempo, acumulándose en depósitos de basura y rellenos sanitarios (Volke *et al.*, 1999; Gross y Karla, 2002) con un tiempo de degradación que va de 16 a 48 años (Rolf *et al.*, 2001). Otros autores indican que los plásticos sintéticos se acumulan en el ambiente a una tasa de 25 millones de toneladas por año (Volke *et al.*, 1999). Estos polímeros de peso molecular alto son muy estables y difíciles de degradar por los microorganismos (Fujisawa *et al.*, 2001; Rolf *et al.*, 2001; Volke *et al.*, 2002), por lo tanto entran lentamente a los ciclos biogeoquímicos (Shimao, 2001). Una parte de estos plásticos la constituye el polietilentereftalato (PET), que es un poliéster termoplástico semicristalino muy utilizado en la fabricación de fibras, laminados y películas. El consumo mundial anual de este polímero es de aproximadamente 13 millones de toneladas y gran parte se destina a la producción de envases para bebidas (Kint y Muñoz-Guerra, 1999; Feldman, 2001).

Durante la fabricación de PET se generan grandes cantidades de ácido tereftálico, lo que representa un problema serio de contaminación ambiental. La degradación de este ácido se realiza mediante procesos microbiológicos. Es similar a la degradación anóxica de compuestos aromáticos naturales como la lignina. La degradación de ácido tereftálico y tereftalato se basa en la transformación inicial del polímero a benzoato y en la interacción con bacterias metanogénicas para la conversión del benzoato en acetato, CO₂ y metano. La similitud se debe a que en ausencia de oxígeno las bacterias inician la degradación de compuestos aromáticos

ya sean naturales (lignina) o sintéticos (PET) mediante su transformación a benzoato en forma de benzoil-CoA (Kleerebezem *et al.*, 1999b; Qiu *et al.*, 2004).

La fibra física efectiva (FDNfe) es la porción de carbohidratos estructurales de la pared celular de un ingrediente alimenticio que estimula la actividad de masticación, producción de amortiguador a través de la saliva y aumento del pH ruminal en rumiantes. Es de gran importancia en el balanceo de raciones de vacas lecheras para tratar de disminuir la acidosis ruminal. Se ha observado que un aumento en el consumo de FDNfe incrementa de una forma lineal la digestibilidad de la PT y tiende a aumentar la digestibilidad de la fibra en la misma forma, en todo el tubo digestivo. También se ha encontrado un aumento en la eficiencia y síntesis de proteína microbiana. En raciones integrales y con alta proporción de ingredientes energéticos, se recomienda incluir mayor cantidad de FDNfe. Para aumentar esta cantidad en la dieta y por ende mayor consumo por los animales; la forma más usual es incluir ingredientes con alto contenido de FDN, como sustratos fibrosos, tales como el heno, la paja u otro sustrato que tenga un alto índice de este componente. El índice es la relación entre la cantidad de materia seca de un sustrato que es retenido a través de una criba de 1.18 mm de \varnothing , multiplicado por el contenido de FDN del mismo sustrato. Se sugiere que una dieta integral debería de contener un mínimo de 22 % de FDNfe para estimular la actividad de masticación y mantener un pH ruminal mayor a 6.0 (Mertens, 1997; Yang y Beauchemin, 2006).

Por lo anterior, el objetivo del presente estudio fue evaluar el efecto de adición de 10 y 20 % de polietilentereftalato molido como fuente de fibra en dietas para

borregos en engorda, sobre las variables productivas, fermentativas y microbiológicas del rumen.

REVISIÓN DE LITERATURA

Generalidades de los plásticos

Los polímeros son cadenas largas de moléculas que se forman por la repetición (poli) de unidades idénticas (meros). Las moléculas pueden ser de origen natural, como la celulosa, cera y caucho, o sintéticas como el polietileno y el nailon.

El término plástico, en forma general, se aplica a las sustancias de distintas estructuras y naturaleza que carecen de un punto fijo de ebullición y poseen propiedades de elasticidad y flexibilidad a determinada temperatura que permiten moldearlas y adaptarlas a diferentes formas y aplicaciones. En sentido estricto, se refiere a materiales sintéticos que se obtienen mediante procesos de polimerización o multiplicación artificial de los átomos de carbono, en largas cadenas moleculares de compuestos orgánicos que se derivan del petróleo y otras sustancias naturales (APREPET, 2007).

Los plásticos son materiales poliméricos orgánicos, que pueden deformarse hasta conseguir una forma deseada por medio de extrusión, moldeado o hilado. Los materiales que se emplean en su fabricación son resinas con forma de bolitas o polvo, con estos materiales se fabrican los plásticos terminados (Sudesh *et al.*, 2000; Peláez, 2001).

Propiedades y características de los plásticos

Los plásticos se caracterizan por una relación resistencia/densidad alta, propiedad excelente para el aislamiento térmico y eléctrico, además de una buena resistencia a los ácidos, álcalis y disolventes de acuerdo al tipo de plástico. Las enormes moléculas de las que están constituidos son lineales, ramificadas o compuestas. Las moléculas lineales y ramificadas son termoplásticas (se ablandan con el calor), mientras que las compuestas son termoendurecibles (se endurecen con el calor) (Sudesh, *et al.*, 2000).

Producción de los plásticos

La mayoría de los plásticos se fabricaban con resinas de origen vegetal, como la celulosa (del algodón), el furfural (de la cáscara de la avena), aceites (de semillas), derivados del almidón o el carbón. No obstante que la producción de nailon se basó originalmente en el carbón, aire y agua; y de que el nylon 11 se fabrica todavía con semillas de ricino, la mayoría de los plásticos se elaboran actualmente con derivados del petróleo, debido a que las materias primas derivadas de este hidrocarburo son más baratas y abundantes. A partir de éstas se obtiene polietileno, poliestireno, polietilentereftalato y polivinil cloruro. No obstante, dado que las existencias mundiales de petróleo tienen un límite, se investigan otras fuentes de materias primas, como la gasificación del carbón (Amass *et al.*, 1998; Sudesh *et al.*, 2000; Peláez, 2001).

La fabricación de los plásticos y su manufactura implica cuatro pasos básicos:
a) obtención de las materias primas, b) síntesis del polímero básico, c) composición

del polímero como un producto utilizable industrialmente y d) moldeo o deformación del plástico a su forma definitiva.

Composición y estructura química del polietilenterftalato (PET)

El polietilentereftalato (PET) es un poliéster termoplástico semicristalino usado en forma de fibras, hojas o películas (Kint y Muñoz-Guerra, 1999). Existen dos tipos, uno es fabricado a partir de etileno, glicoles y tereftalato, es transparente y amorfo (A-PET) y el otro blanquecino y cristalino (C-PET); el PET está compuesto de 64 % de petróleo, 23 % de derivados líquidos de gas natural y 13 % de aire (Peláez, 2001). A partir del petróleo crudo se extrae el paraxileno y se oxida con el aire para dar ácido tereftálico y el PET se produce combinando este ácido con etilenglicol (Figura 1).

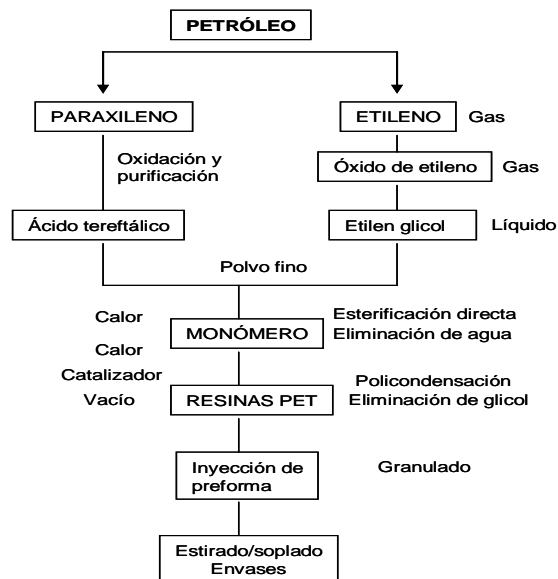


Figura 1. Proceso para la obtención del PET (Peláez, 2001).

Principales usos y problemas de contaminación ambiental del polietilentereftalato

El PET es el poliéster más utilizado en la industria textil y de envases plásticos, en el año 2,000 se produjeron 30 millones de toneladas en comparación con las principales fibras sintéticas y las fibras de poliéster. El PET se produce en mayor cantidad que el polibutilentereftalato y politrimetilentereftalato (Altun y Ulcay, 2004). La industria de los termoplásticos en México tiene una participación importante en la producción de envases y embalaje; en el año 2,000 se usaron 3.2 millones de toneladas de plástico, de las cuales 413 mil toneladas fueron para la producción de PET. Además de que el PET tiene baja permeabilidad a gases, los envases son ligeros, transparentes, resistentes a impactos y no alteran las propiedades de su contenido y no son tóxicos; por ello el PET ha desplazado a otros materiales y su demanda aumenta año con año (Kint y Muñoz-Guerra; 1999).

En 1993 se produjeron 14,4 millones de toneladas de ácido tereftálico (ATF) purificado (1,4-ácido bencenodicarboxílico) y dimetil tereftalato (DTF), los dos principales monómeros utilizados en la fabricación de fibras de poliéster, resinas y películas plásticas (Fajardo *et al.*, 1997). La producción de ATF purificado se hace en dos etapas: primero el ATF crudo se produce por oxidación acuosa de *p*-xilano (1,4-dimetil benceno) con aire usando ácido acético como solvente, y en la segunda etapa el ATF crudo es hidrogenado (Sheng-Shung *et al.*, 1997).

Durante el proceso se generan aguas residuales que contienen altas concentraciones de contaminantes orgánicos (Kleerebezem *et al.*, 1999b). El ATF purificado también se puede considerar un producto de desecho y se genera en la

fabricación de envases de PET usados para embotellar bebidas carbonatadas. Los principales componentes de las aguas residuales producidas durante este proceso en orden decreciente a su concentración son ATF, ácido acético, ácido benzoico, y ácido *para*-tolúico (ácido 4-metilbenzoico), en forma decreciente a su concentración (Kleerebezem *et al.*, 1999b; Shigematsu *et al.*, 2003).

No obstante, los productos de la degradación de PET acumulados en el ambiente (etilen glicol y ácido tereftálico), son poco tóxicos para las bacterias, algas, crustáceos, peces y mamíferos, lo que indica que pueden ser bioasimilados (Kint y Muñoz-Guerra, 1999; Witt *et al.*, 2001).

Además de los contaminantes originados durante la fabricación de PET, las botellas fabricadas con este plástico son arrojadas al ambiente, donde se acumulan, generando otra forma de contaminación.

Degradación del ácido tereftálico

El ATF es un compuesto aromático producto de la fabricación de PET que se encuentra en altas concentraciones en aguas residuales. Al igual que la mayoría de los compuestos aromáticos el ATF también es biodegradable en ambientes metanogénicos. Por esta razón, las aguas residuales que contienen compuestos fenólicos y ácidos aromáticos, se tratan mediante procesos de degradación biológicos aerobios (Kleerebezem *et al.*, 1999a).

A pesar de que el agua residual que contiene ATF y sus isómeros se trata generalmente mediante sistemas biológicos aerobios, el tratamiento anaerobio

presenta ventajas ya que requiere menor cantidad de energía y nutrientes comparado con el proceso aeróbico tradicional.

En biorreactores anaerobios de lodos con flujo ascendente (UASB, por sus siglas en inglés) se realiza con éxito el tratamiento de aguas residuales que contienen tereftalato. En este tipo de biorreactores las poblaciones microbianas forman agregados en forma de gránulos, estableciendo microecosistemas individuales. Cada microecosistema está compuesto por bacterias acetogénicas que degradan compuestos orgánicos complejos transformándolos en una mezcla de acetato, hidrógeno y formato por bacterias *Archea* metanogénicas las cuales mineralizan continuamente los productos intermedios a metano y dióxido de carbono.

Estas poblaciones interactúan sintrópicamente, debido a que la transformación de tereftalato a acetato es energéticamente desfavorable ($\Delta G'_0 > 0$): Tereftalato²⁻ + 8H₂O → acetato⁻¹ + 3H⁺ + 2HCO₃⁻ + 3H₂ ($\Delta G'_0 = +38.9 \text{ kJ mol}^{-1}$); y requieren un acoplamiento para continuar la reacción hasta la formación de metano: HCO₃⁻ + 4H₂ + H⁺ → CH₄ + 3H₂O ($\Delta G'_0 = -135.6 \text{ kJ mol}^{-1}$) o acetato⁻ + H₂O → HCO₃⁻ + CH₄ ($\Delta G'_0 = -31.0 \text{ kJ mol}^{-1}$).

Las bacterias responsables de la degradación de tereftalato a acetato e hidrógeno pertenecen en su mayoría al grupo de las δ -*Proteobacteria*, cuya clasificación se hizo mediante técnicas moleculares y análisis de secuencias de ARN_r 16S. Este grupo bacteriano tienen una asociación estrecha con diferentes poblaciones metanogénicas, entre las que se encuentran identificados los géneros: *Methanosaeta*, *Methanospirillum* y *Methanobacteriaceae* que transforman acetato, hidrógeno y dióxido de carbono a metano (Jer-Horng *et al.*, 2001).

Bacterias aerobias que degradan ácido tereftálico

Al producir poliéster mediante tratamiento cáustico, se utiliza calentamiento e hidróxido de sodio; el agua residual resultante de este proceso contiene monómeros de poliéster de ácido tereftálico compuesto por la sal disódica del ácido tereftálico y etilen glicol, producto de la hidrólisis en condiciones alcalinas (Kimura e Ito, 2001).

La degradación del tereftalato disódico (TD) se ha estudiado con cepas de bacterias aisladas del suelo. Los aislamientos se hicieron en cultivos selectivos que contenían 4.2 g (20 mM) TD L⁻¹ agua destilada como única fuente de carbono o energía y un pH de 10. De las cepas aisladas se seleccionó la GS-1, identificada mediante análisis de la secuencia genética del ARN_r, como *Dietzia* sp. cepa GS-1 alcalifílica. En el estudio de degradación de TD, esta cepa mostró una fase lag de 50 h, una fase exponencial de 72 h y una fase de estabilización de 68 h. Esta fase de crecimiento fue menor a otras especies de microorganismos conocidas que degradan tereftalato (Sugimori *et al.*, 2000).

A las 168 h de incubación, se degradó 96.5 % (19.3 mM) de TD de una concentración inicial de 20 mM; la mayor degradación se dio entre las 72 y 100 h de incubación con una velocidad máxima de 0.46 mM h⁻¹, sin cambios en el pH del medio durante el crecimiento (Sugimori *et al.*, 2000).

Otras bacterias aisladas del mismo ambiente (*Bacillus* sp.) también degradan ATF en medios selectivos con ácido tereftálico como única fuente de carbono (sal mineral y 0.2 % de tereftalato). El crecimiento máximo se registró entre las 16 y 18 h. No se conoce una ruta metabólica para la degradación de este compuesto, pero se propone como primer paso la transformación a dihidrodiol tereftalato; los compuestos

intermediarios formados probablemente son metabolizados al momento de su producción. Así, se comprobó que el tereftalato es degradado vía dihidrodiol tereftalato hasta protocatechuate (PC) como producto final (Karegoudar y Pujar, 1985). Durante esta ruta degradativa la enzima clave es la 1,2-dioxigenasa (Shigematsu *et al.*, 2003). De las enzimas oxigenasas, la más conocida es la dioxigenasa ftalato, que interviene en la degradación de los isómeros dicarboxilato de benceno, ftalato, isoftalato y tereftalato (TER).

Con relación a esta ruta, las bacterias *Comamonas testosteroni* T-2, *Comamonas sp.* cepa E6, *Athrobacter keyseri* y *Rhodococcus sp.* cepa RHA1 tienen como intermediario común el protocatechuate (Schläfli *et al.*, 1994; Hara *et al.*, 2007), metabolito importante durante la degradación bacteriana de varios compuestos aromáticos como vanilato, hidroxibenzoatos, y ftalatos (Providenti *et al.*, 2001; Patrauchan *et al.*, 2005; Sasoh *et al.*, 2006). Estos compuestos de anillo simple se conocen como sustancias de partida porque el catabolismo oxidativo solo continúa después que las complejas moléculas aromáticas se han convertidos a estas formas más simples. El protocatechuate puede ser luego degradado a compuestos que pueden entrar en el ciclo del ácido cítrico: succinato, acetil-CoA, piruvato y completar su mineralización (Fig. 2; Providenti *et al.*, 2001).

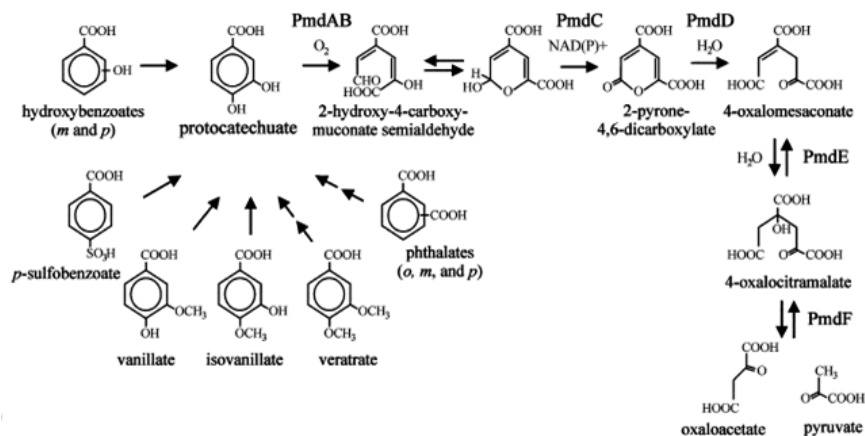


Figura. 2. Ruta catabólica de varios compuestos aromáticos en *Comamonas testosteroni* (Providenti et al., 2001).

Principales bacterias anaerobias que degradan ácido tereftálico

En condiciones de anaerobiosis, algunos microorganismos degradan tereftalato. Dentro de estos se encuentra la bacteria Gram (+) *Nocardia* sp. cepa DSM 43251, especies de *Bacillus* spp, *Dietzia* spp. cepa GS-1, *Proteobacteria* spp, *Bordetella* spp. cepa K1, *Pseudomonas* sp. cepa C4S, y dos cepas T-2 y YZW-D de *Comamonas testosteroni* (Shigematsu et al., 2003).

Mediante técnicas moleculares y métodos de cultivo dependientes, se identificó que entre las principales poblaciones bacterianas involucradas en la degradación de tereftalato, están el grupo de δ -*Proteobacteria* (Jer-Horng et al., 2001), el subcluster lh del grupo “*Desulfotomaculum* lineage I” (Qiu et al., 2004) y el complemento metanogénico sintrópico formado por la especie *Methanosaeta concilli* y diferentes especies de los géneros *Methanospirillum* y *Methanobacteriaceae*. Lo anterior confirma el concepto de que la degradación del tereftalato es un proceso

microbiológicamente complejo de dos fases y que finaliza con la producción de metano (Chen *et al.*, 2004).

Shigematsu *et al.* (2003) aislaron una bacteria de lodos activos, clasificada como cepa T7^T, la que demostró potencial para utilizar y degradar tereftalato para obtener energía. En condiciones aeróbicas esta bacteria usa como fuente de energía acetamida, β-alanina, citrato, D-fructuosa, glicerol, isobutirato, isoptalato, D(-)-manitol, maleato, malonato, fenilacetato, propionato, protocatechuate, tereftalato, D-triptofano y L-triptofano. Mediante análisis filogenéticos y de la secuencia genética de su ARN_r 16S se clasificó como una nueva especie del género *Delftia* y con nombre de *tsuruhatensis* sp. nov. (Shigematsu *et al.*, 2003).

En la mayoría de los microorganismos que tienen capacidad para degradar tereftalato, se reporta el protocatechuate como producto intermedio de su degradación. El sistema enzimático que participa en esta reacción es el 1,2-dioxigenasa (Shigematsu *et al.*, 2003).

La degradación de isómeros de benceno dicarboxilato, ftalato, isoftalato y TER se conoce ampliamente, de hecho la enzima oxigenasa que interviene en el proceso es la dioxigenasa ftalato. La bacteria *Comamonas testosteroni* utiliza este sistema enzimático que incluye una dioxigenación antes de transformar el anillo del intermediario común protocatechuate (Schläfli *et al.*, 1994).

Degradación de ácido tereftálico en condiciones mesofílicas

Concentraciones altas de ácido acético inhiben la degradación de ácido benzóico y *p*-tolúico, mientras que la concentración de ATF no afecta la degradación

del ácido benzóico. Así mismo, se sabe que la transformación de ATF a metano disminuye con la presencia de hidrógeno, ácido acético y ácido benzóico. Los ácidos benzóico (7 g L^{-1}) y ftálico (4 g L^{-1}) no muestran toxicidad para microorganismos metanogénicos acetoclásticos; sin embargo, para el ATF se reportan resultados variables con efectos tóxicos a una concentración alta (5 g L^{-1}) y baja (0.5 g L^{-1} ; Fajardo *et al.*, 2006).

Con relación a esto, Fajardo *et al.* (1997) encontraron que en lodos activos provenientes de aguas residuales, el tereftalato disódico y el benzoato de sodio se metabolizaron a una tasa de 17 y $87 \text{ mg g}^{-1} \text{ VSS}$ (sólidos suspendidos volátiles) d^{-1} , y que la degradación de ATF se inhibió parcialmente en presencia de benzoato y totalmente con la inclusión de glucosa. En presencia de ácido benzóico y ATF, la degradación de este último ocurre una vez que termina la degradación del ácido benzóico; pero en presencia de glucosa y ATF, la degradación de ATF no se reestablece una vez metabolizado el ácido benzóico (Fajardo *et al.*, 2006).

Los compuestos de fácil degradación (ácidos benzóico, acético y fórmico) encontrados en aguas residuales provenientes de la fabricación de fibras de poliéster, se pueden metabolizar hasta metano sin problema durante el tratamiento anaeróbico, debido a que este proceso bioquímico no es inhibido por la presencia de los ácidos 4-carboxilbenzaldehído, ATF, y *p*-tolúico. Por lo anterior es difícil obtener degradación de ATF en presencia de glucosa y acetato, así como de *p*-toluato; por tal razón se recomienda utilizar un reactor de dos fases: primera para eliminar los compuestos que inhiben la degradación de ATF y *p*-tolúico (benzoato, acetato, glucosa), y segunda para metabolizar los compuestos aromáticos (tereftalato y *p*-toluato) (Fajardo *et al.*, 2006).

Kleerebezem *et al.* (1999c) encontraron que la degradación de tereftalato se realiza bien a un rango de pH entre 6.1 a 7.1, con mejor resultado a pH de 7.1. Con pH inicial de 5.6, hay acumulación de acetato y no hay crecimiento microbiano; no obstante, con pH mayor a 5.6 no hay acumulación de acetato, lo cual indica una dependencia fuerte con la remoción rápida de éste. Así mismo la biomasa bacteriana que degradó el tereftalato tuvo poca tolerancia a un pH mayor a 7.5.

Para lograr una tasa de degradación alta ($>40 \text{ mmol L}^{-1} \text{ d}^{-1}$) de tereftalato en los biorreactores, debe de cumplirse con: (i) tiempo de retención de sólidos alto, (ii) temperatura cercana a su valor óptimo, $37 \text{ }^\circ\text{C}$, (iii) pH entre 6.1 y 7.1, con preferencia por un pH de 7, y iv concentración baja de acetato y benzoato. Debido a que los sustratos de degradación rápida (acetato y benzoato) inhiben fuertemente la degradación de tereftalato, se sugiere la utilización de un sistema que utilice un reactor de dos fases. En la primera fase se favorece la degradación de benzoato y acetato a tasas altas; mientras que, en la segunda fase se favorece una tasa de degradación alta para el tereftalato, siempre y cuando las condiciones limitantes mencionadas anteriormente se cumplan (Kleerebezem *et al.*, 1999c; Fajardo *et al.*, 2006).

Con el objetivo de evaluar el efecto de benzoato y acetato en la degradación de tereftalato, Kleerebezem *et al.* (1999b) emplearon un cultivo proveniente de la fase granular de un reactor utilizado para degradar tereftalato, el cultivo mostró capacidad para degradar benzoato sin presentar fase lag; sin embargo, cuando fue incubado con una mezcla de tereftalato y benzoato, se observó una conversión secuencial de ambos sustratos, siendo preferido el benzoato sobre el tereftalato. Por

tanto, si el tereftalato no se degrada en presencia de benzoato, la degradación de una mezcla de benzoato y tereftalato se aproxima a una degradación diaúxica.

También se ha determinado que la disminución en bacterias con capacidad para degradar tereftalato es más pronunciada cuando hay menor concentración de benzoato inicial y menor de biomasa bacteriana. En consecuencia, las tasas de conversión de tereftalato, después de la conversión del benzoato, significativamente son más bajas comparadas a las obtenidas cuando se emplea solo tereftalato como fuente de carbono y energía. Un efecto similar se observó en cultivos incubados con una mezcla de acetato y tereftalato (Kleerebezem *et al.*, 1999b).

Tanto el benzoato como el tereftalato pueden ser fermentados por el mismo microorganismo; sin embargo, hay una preferencia por la degradación de benzoato a pesar de que la fermentación de tereftalato es energéticamente más favorable que la fermentación de benzoato, esto, debido a que la descarboxilación de tereftalato es un proceso exergónico ($\Delta G'_0 \approx -20 \text{ kJ mol}^{-1}$; Kleerebezem *et al.* 1999b). No obstante a esta ventaja energética, actualmente se desconoce por qué los microorganismos prefieren al benzoato como sustrato.

Las etapas iniciales en la degradación de benzoato y tereftalato (Figura 3), es probablemente la conversión a benzoil coenzima A (benzoil-CoA), un intermediario central en la degradación de compuestos aromáticos. Se sugiere que las diferencias cinéticas entre este número limitado de pasos para la formación de benzoil-CoA, determina la preferencia por la degradación de benzoato sobre tereftalato (Kleerebezem *et al.*, 1999b).

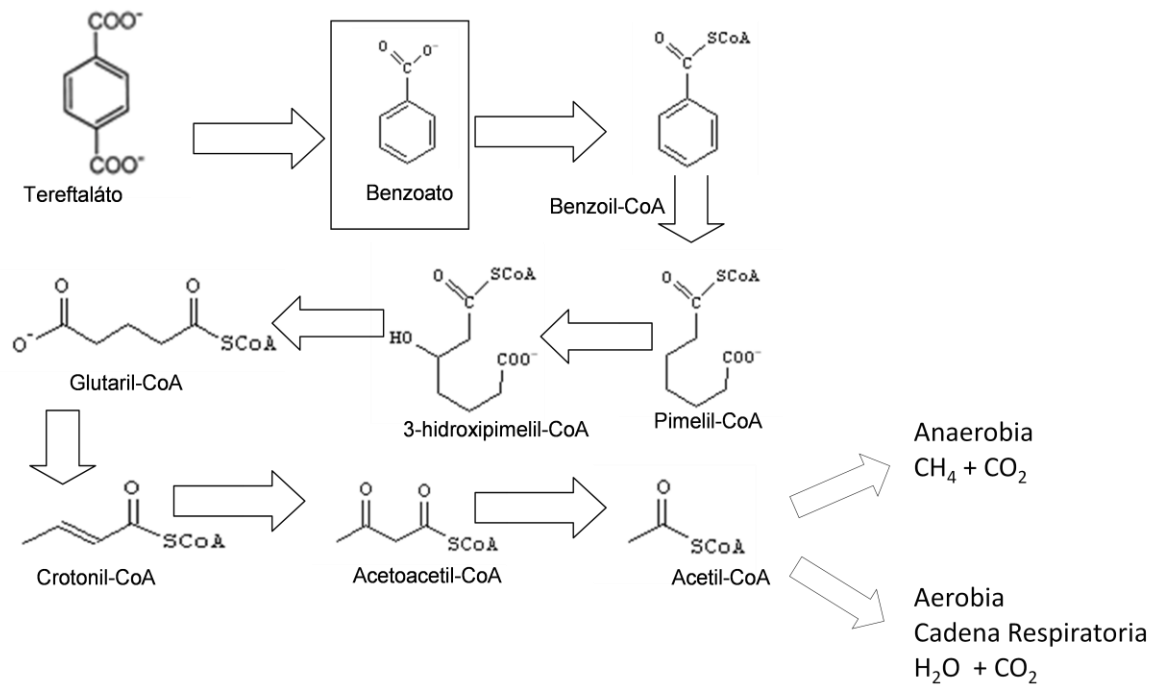


Figura 3. Degradación anaerobia del ácido tereftálico (Kleerebezem *et al.*, 1999b).

La tasa de absorción de sustrato a través de la membrana microbiana determina la tasa de formación de benzoil-CoA, dado que el valor para pK_a (constante de disociación) del tereftalato (3.5) es más bajo que para benzoato (4.2), el flujo de tereftalato a través de la membrana citoplasmática es menor comparado con benzoato. Como resultado, en presencia de ambos (benzoato y tereftalato) se produce una mayor concentración de benzoil-CoA a partir de benzoato comparado con tereftalato y consecuentemente la conversión de benzoato procederá más rápido (Kleerebezem *et al.*, 1999b).

En consecuencia, si la conversión de benzoil-CoA se interrumpe debido a un periodo con menor cantidad de sustrato, la cadena se interrumpe y uno de los pasos

iniciales en la degradación de tereftalato ya no puede ser posible (Kleerebezem *et al.*, 1999b).

Se estima que el benzoato tiene una función doble en la degradación de tereftalato: el benzoato (i) estimula la degradación de tereftalato cuando se agrega a concentración baja, después de un periodo corto sin sustrato en el medio, (ii) inhibe la degradación de tereftalato cuando ambos están presentes, y (iii) puede provocar pérdida de la actividad para degradar tereftalato después de degradar benzoato por periodos de tiempo largos (Kleerebezem *et al.*, 1999b).

Investigaciones recientes están dirigidas al tratamiento de isómeros de ftalato (*ortho*-, *meta*-, y *para*-benceno ácido dicarboxílico) mediante procesos anaeróbicos. Estos isómeros son compuestos antropogénicos producidos en grandes cantidades durante el proceso de fabricación de resinas de poliéster, envases de plástico, fibras de poliéster, y otros productos derivados del petróleo, los cuales son descargados en aguas residuales por la industria.

Los problemas generados en el tratamiento de estos residuos estriban en el hecho de que el proceso requiere de periodos largos de arranque (fase lag larga) para la remoción de los isómeros de ftalato y que el proceso a veces se interrumpe por causas aún desconocidas durante el tratamiento. Así, la fase de arranque va de 1 a 3 meses en reactores operados por lotes, hasta más de un año en reactores de escala completa. Este problema se ha atribuido a la poca estabilidad de las poblaciones microbianas responsables de la degradación de los isómeros del ftalato en condiciones metanogénicas; por tanto, la atención científica se enfoca hacia estudios sobre la estabilidad de las poblaciones microbianas que degradan isómeros de ftalato (Qiu *et al.*, 2004).

En condiciones metanogénicas, se considera que la degradación de ftalato se lleva a cabo por una asociación sintrópica entre diferentes grupos tróficos de microorganismos anaerobios. La visión actual es que esta asociación puede estar formada por al menos tres grupos de microorganismos, (i) degradadores de ftalato, productores de hidrógeno (y/o formato), bacterias fermentativas que forman acetato, hidrógeno (y/o formato), y dióxido de carbono como productos finales, (ii) metanogénicos hidrogenotróficos, los cuales capturan hidrógeno, y (iii) metanogénicos acetoclásticos, los que consumen acetato. Ya que la reacción llevada a cabo por las bacterias degradadoras de ftalato es desfavorable energéticamente en condiciones estándar, la presencia de los últimos dos grupos microbianos se considera esencial para que toda la reacción sea energéticamente posible. Debido a las características de las bacterias sintrópicas degradadoras de sustrato, el aislamiento de las mismas se considera difícil y por tanto solamente algunas especies de estos grupos microbianos se han aislado e identificado exitosamente hasta ahora (Qiu *et al.*, 2004).

Así mismo, se reportan pocos cultivos enriquecidos que degradan isómeros de ftalato en condiciones metanogénicas (Qiu *et al.*, 2004), dentro de éstos Kleerebezem *et al.* (1999b) reportan el aislamiento de tres consorcios metanogénicos que degradan *ortho*-ftalato, isoftalato, o tereftalato. Para obtener los cultivos mixtos con alta degradación de sustrato se requirió más de un año de estudios y se adicionaron cantidades de 6 a 12 mM de isómeros de tereftalato y se seleccionaron los cultivos mixtos que lograron degradar 1 mM d⁻¹; el 20 % del cultivo obtenido fue transferido a medios de cultivo fresco. De esta forma se obtuvieron tres cultivos mixtos; los microorganismos que crecieron no fueron capaces de degradar otro tipo

de sustratos. En este estudio, los tres cultivos mixtos tuvieron la capacidad de degradar benzoato sin fase lag a tasas comparables con las de la degradación de los isómeros de tereftalato, y se produjeron cantidades pequeñas de acetato (1 a 4 mM) e hidrógeno (3 a 5 mM) durante la fase de crecimiento exponencial, lo cual indicó una relación estrecha entre las bacterias fermentativas y metanogénicas. De hecho, al utilizar *ortho*-ftalato como sustrato, hubo poca acumulación intermedia de benzoato (1 a 3 μ M), no se detectaron metabolitos intermediarios durante la fase de crecimiento exponencial al utilizar los tres isómeros (ortoftalato, isoftalato y tereftalato).

Degradación de ácido tereftálico en condiciones termofílicas

La degradación anaerobia del ácido tereftálico se realiza normalmente en condiciones mesofílicas (35 a 37 °C); no obstante, el tratamiento termofílico anaerobio puede ser una alternativa ya que las aguas residuales contaminadas con tereftalato se generan a una temperatura de 54 a 60 °C, que se acerca a la temperatura para el desarrollo de un consorcio metanogénico termofílico. Además, se ha reportado que un consorcio bacteriano termofílico tiene tasas de remoción orgánica mucho más altas que un consorcio mesofílico; así, el volumen del reactor anaerobio requerido para tratar cierto tipo de aguas residuales, puede ser significativamente de menor tamaño comparado con otro operando en condiciones mesofílicas (Chen *et al.*, 2004).

A diferencia del proceso metanogénico mesofílico, se conoce poco acerca de los procesos termofílicos para el tratamiento microbiano anaeróbico del ATF en

aguas residuales. Un intento inicial hecho por Kleerebezem *et al.* (1997) falló, al establecer un consorcio metanogénico termofílico en un reactor de lecho de lodos con flujo ascendente, proporcionando ATF como fuente de carbono. Esta falla, se debió probablemente a una baja concentración de microorganismos degradadores de ATF en los lodos de donde se obtuvo el inóculo y a las condiciones de operación inadecuadas para enriquecer el consorcio microbiano.

Chen *et al.* (2004) identificaron que las principales poblaciones microbianas relacionadas con la degradación inicial de tereftalato en condiciones termofílicas, fueron bacterias del género *Desulfotomaculum*, y la especie metanogénica *Methanothrix thermophilla*. Al parecer estas bacterias son muy sensibles y si las condiciones del biorreactor cambian (cambios en temperatura o falla en el sistema de bombeo), se produce un cambio en las poblaciones microbianas, incluso después que se recuperan las condiciones óptimas del biorreactor. Se ha determinado una proliferación de otras poblaciones bacterianas que pertenecen principalmente a los géneros *Cytophaga*, *Flexibacter*, *Bacteroides*, así como β -*Proteobacteria*, *Planctomycetes* y *Nitrospira*. Estas poblaciones bacterianas también degradan tereftalato en el reactor, pero su actividad es mínima comparada con las poblaciones establecidas antes de las perturbaciones en el funcionamiento normal del reactor (Chen *et al.*, 2004).

Las aguas residuales producto de la fabricación de polietilentereftalato, tienen pH de 4.5, una temperatura de 56 °C, y una concentración alta de ATF (1-4 g L⁻¹), que es poco soluble en agua (19 mg L⁻¹ a 25 °C, 400 mg L⁻¹ a 100 °C), con una alta densidad (1.5 g mL⁻¹ a 25 °C). Estas características indican que el ATF no puede ser

degradado significativamente en reactores operados con tiempos de retención hidráulica cortos (Chen *et al.*, 2004).

Tomando en cuenta las propiedades físicas del ATF, este problema puede solucionarse de dos formas: el primer procedimiento consiste en separarlo del agua residual antes del tratamiento en la unidad anaeróbica, y el segundo transformando el ATF por una simple neutralización (se requiere un pH mínimo de 5.5 para evitar la precipitación) a una sal de sodio mucho más soluble (140 g L^{-1} a $25 \text{ }^\circ\text{C}$), para después tratarlo en el biorreactor. La neutralización completa con un compuesto alcalino externo no es necesaria, ya que la alcalinidad generada durante el proceso anaeróbico a través de la circulación del efluente promueve este proceso. El poder alcalinizante del efluente reciclado puede incrementarse más por la disminución del contenido de CO_2 (Macarie, 2000).

Kimura e Ito (2001), desarrollaron un tratamiento microbiológico para el tratamiento de aguas residuales conteniendo ácido tereftálico (ATF), proveniente de procesos industriales con temperatura y pH altos ($50 \text{ }^\circ\text{C}$; 10). Los microorganismos fueron aislados de muestras obtenidas de aguas residuales de la industria y lodos activos de plantas de tratamiento. Se utilizaron dos medios de cultivo incluyendo 6 g de ATF L^{-1} agua y pH de 6.5 y, 8 g de ATF L^{-1} agua purificada y pH de 7.5. Los resultados encontrados mostraron que la cepa K1 mineralizó el ATF completamente, sugiriendo que tiene un sistema enzimático completo para degradar ATF; mientras que, la cepa K3 provee un factor de crecimiento para la cepa K1. Con la utilización de este consorcio se obtuvo una degradación microbiana de más de 99 % de ATF a condiciones de $45 \text{ }^\circ\text{C}$ y un pH menor de 8.5. Los resultados sugieren que los

microorganismos de cultivos mixtos tienen potencial para el tratamiento de aguas residuales que contienen ATF.

Reciclado de desechos de fibras de polietilentereftalato

Métodos físicos

Los métodos mecánicos pueden aplicarse a todo tipo de desechos, incluyendo aquéllos originados de forma natural en el procesamiento de lana, algodón, etc., así como también a desechos de polímeros sintéticos y regenerados, tal como desechos de poliéster y nailon. Las etapas generales del método son cortado, mezclado y apertura. El producto obtenido, en forma de red, se procesa en una planta de hilado para obtener hilaza gruesa.

Los métodos mecánicos son los más simples, los costos también son bajos y por tanto el valor del producto también (Pisano *et al.*, 2000).

La mitad de las alfombras hechas de poliéster están fabricadas con PET reciclado de botellas (Miller, 2004); en Europa el PET reciclado también se utiliza para rellenar sacos para dormir y juguetes suaves, representando un uso del 75 % del PET recuperado. También se utiliza el PET reciclado para fabricar chamarras, bufandas, mesas utilizadas en excursiones, “leña plástica”, postes para cercas, partes automotrices, muebles, etc. donde en cada producto se utiliza diferente porcentaje de PET (Stein, 1992; Miller, 2004; Krzan *et al.*, 2006). El uso más reciente del reciclado de PET, es como material de reemplazo en mezclas de asfalto para su

uso en la construcción de carreteras; de esta forma se reduce el efecto ambiental que causan los desechos de PET (Hassani, 2005).

Métodos químicos

Los métodos químicos se usan para reciclar desechos de fibras de PET recicladas y reciclar envases de PET. Los métodos más comunes son glicólisis y metanólisis. La hidrólisis y extruído al vapor también puede usarse pero todavía no es muy común. Los métodos químicos son más complicados y los costos del proceso son elevados (Krzan *et al.*, 2006; APREPET, 2007). El reciclado químico es el proceso más deseable porque los plásticos son convertidos a sus monómeros básicos, los cuales pueden ser reutilizados nuevamente. Para reciclar el PET se han utilizado varios métodos como metanólisis en metanol líquido, glicólisis en etilén glicol líquido, e hidrólisis utilizando un álcali. Los productos obtenidos son: ácido tereftálico y etilén glicol, principalmente, así como tereftalato, dimetil tereftalato, 1,4-dioxano, acetaldehído, ácido crotónico, entre otros, que son considerados productos secundarios (Goto, 2009).

Métodos termomecánicos

Los métodos termomecánicos pueden utilizarse para procesar desechos de fibra de PET, polipropileno y poliamida; estos métodos se basan en el refundido de desechos termoplásticos para obtener una regranulación. Así, el regranulado obtenido puede utilizarse como producto principal en la producción de fibra o la

industria del plástico. Debido a la degradación y viscosidad, el regranulado se utiliza generalmente en la producción de fibra.

Los métodos termomecánicos son más simples que los químicos y el valor de los productos generalmente es mayor que aquéllos obtenidos con los métodos mecánicos. El método termomecánico es el más común para reciclar desechos de botellas fabricadas con PET y consta principalmente de un proceso de re-extrusión con varios pasos, agrupados en: cortado, compactación/secado o secado y expulsión. Sin embargo, el problema principal es la degradación durante el reciclado de los desechos de fibras de poliéster. Los tipos de degradación que ocurren durante la re-extrusión de los desechos de fibra de PET son: (i) degradación térmica, (ii) degradación termo oxidativa, (iii) hidrólisis, y (iv) degradación mecánica, esta degradación afecta negativamente las características plásticas del PET y su uso en la fabricación de envases (Altun y Ulcay, 2004).

Degradación microbiana de compuestos aromáticos naturales (lignina) en ecosistemas anaerobios

Los compuestos aromáticos son el segundo grupo más abundante de compuestos orgánicos en la biósfera después de los carbohidratos, y muchos son considerados contaminantes (Zeicus, 1980; Levén, 2006; Young *et al.*, 2007). La lignina es un complejo aromático y representa alrededor del 25 % de la biomasa en la tierra; este compuesto se considera tóxico cuando ingresar al ambiente como producto de la industrial del papel (Wu *et al.*, 2005).

La degradación de la lignina se lleva a cabo de forma natural por microorganismos que degradan compuestos aromáticos presentes en suelo y agua (Díaz *et al.*, 2001; Karetnikova, 2006). Este proceso ocurre en pantanos, sedimentos, arrozales, rumen, tubo digestivo de termitas y rellenos sanitarios, así como en biodigestores anaerobios en condiciones controladas (Hans-Joachim *et al.*, 1983; Karlsson *et al.*, 1999; Leven, 2006).

Warikoo *et al.* (1996) y Karlsson *et al.* (2000) estudiaron la solubilización y degradación anaerobia de la lignina en aguas residuales y zanjas anaerobias para el tratamiento de desperdicios orgánicos. Dicha solubilización y degradación comprende los siguientes pasos: i) las rutas inician con la transformación de fenoles a benzoato (vía 4-hidroxi-benzoato, 4-hidroxibenzoil-CoA, y benzoil CoA); ii) reducción del anillo benzoico en lugar de una ruptura oxidativa del anillo; iii) ruptura del anillo, dando origen a un ácido graso de cadena lineal o un ácido dicarboxílico; iv) transformación de los ácidos intermediarios en acetil CoA (Schink, 1997).

La descomposición anaerobia de compuestos aromáticos por cultivos puros o mixtos de bacterias se caracteriza por un acoplamiento entre reacciones de fosforilación no oxidativa y reacciones catabólicas de deshidrogenación acopladas con la hidrogenación de un aceptor externo de electrones (NO_3^- y CO_2), dando como resultado un producto reducido (NH_3 y CH_4) (Karlsson *et al.*, 2000).

En condiciones metanogénicas, la transformación de fenoles se realiza por diferentes consorcios microbianos; sin embargo, solo 3 bacterias degradadoras de fenoles se han aislado: *Sedimentibacter hydroxybenzoicum*, *Cryptanaerobacter phenolicus* y *Syntrophorhabdus aromatica* (Juteau *et al.*, 2005; Levén, 2006).

La capacidad para degradar lignina hasta acetato, metano y CO₂ es estimulada con la presencia de bacterias metanogénicas. La degradación de fenoles es lenta, requiriéndose al menos 10 d para su transformación a benzoato y hasta 60 d para su total transformación a acetato y metano (Karlsson *et al.*, 2000).

Degradación de fenoles en rumen

Los ácidos p-coumarico y ferúlico son los monómeros fenólicos más comunes en la dieta de animales; estos fenoles libres, así como la lignina, afectan el consumo de alimento, inhiben la digestión enzimática y el crecimiento microbiano. En el rumen hay formación de complejos solubles carbohidrato-lignina y los monómeros fenólicos unidos a estos complejos son solubilizados mediante la acción bacteriana (Jung y Fahey, 1983; Jung *et al.*, 1983). Los monómeros fenólicos (p-coumarico y ferúlico) pueden ser fermentados por microorganismos ruminales para obtener energía, o liberados como glucósidos fenólicos solubles (Fahey *et al.*, 1980; Jung *et al.*, 1983).

Los dos principales ácidos aromáticos excretados en orina por rumiantes son el hiperpúrico y fenacetúrico, los cuales provienen del metabolismo de los ácidos benzoico y fenilacético, la principal fuente del ácido fenilacético es el aminoácido fenilalanina de la dieta, una vez que es metabolizado por microorganismos ruminales; mientras que el ácido benzoico se produce a partir de la degradación de alcoholes solubles precursores de lignina y la lignina de la dieta como tal (Martin, 1982a). Para el caso del ácido benzoico los microorganismos metabolizan el ácido cinámico fenólico mediante una hidrogenación (reducción) de la cadena lateral

insaturada, desmetilación y deshidroxilación para transformarlo en ácido 3-fenilpropiónico. Estas reacciones no ocurren en los derivados del ácido ni en el ácido fenilacético (Martin, 1982c).

Es importante señalar que al incubar los ácidos quínico, ciclohexanocarboxílico, benzoíco o cinámico en líquido ruminal, se ha determinado que ocurre una degradación completa del anillo fenólico; el inconveniente es que se requiere de un periodo largo de tiempo (más de 72 h) para llevar a cabo la reacción. Estos resultados no indican que el rompimiento del anillo aromático sea extensivo en el rumen, pero sí que el precursor principal de ácido benzoíco urinario son los constituyentes de la dieta, que al ser fermentados en rumen producen ácido fenilpropiónico (Martin, 1982b).

La fermentación de compuestos fenólicos en el rumen provoca la excreción de otros fenoles simples, en la orina de rumiantes. Dentro de estos fenoles simples se encuentran en orden decreciente: *p*-cresol, catecol, fenol y 4-metilcatecol (Martin *et al.*, 1983).

La degradación de lignina en rumen puede ser de 10 % y se lleva a cabo por la acción de hongos ruminales (Chen *et al.*, 1985; Akin y Benner, 1988), no obstante, se atribuye a la acción bacteriana una parte de esta degradación, al respecto Akin (1980), reportó el aislamiento de una bacteria ruminal que degrada tejido vascular lignificado.

Aunque no se ha reportado la formación de benzoato en el rumen, existen indicios que permiten suponer que en este medio hay bacterias degradadoras de compuestos aromáticos como la lignina, por ejemplo: i) tanto bacterias como hongos ruminales, pueden solubilizar lignina, lo que también se ha reportado como un

proceso inicial para la degradación de fenoles en otros hábitats anaerobios (Kleerebezem *et al.*, 1999c); ii) hay hidrogenación de fenoles libres por bacterias ruminales celulolíticas (Martin, 1982c; Dehority, 1998). Al respecto, Karlsson *et al.*, (2000), mencionan que la degradación de fenoles por bacterias anaerobias de rellenos sanitarios inicia con su hidrogenación; iii) en el rumen está ampliamente documentada la interacción positiva entre microorganismos celulolíticos (bacterias y hongos) con bacterias metanogénicas (Dehority, 1998), lo cual es un requisito para la degradación de fenoles en otros ambientes anaerobios; iv) se ha reportado la degradación ruminal de dehydrodivanilina y su transformación en ácidos grasos volátiles (Chen *et al.*, 1985), aunque la dehydrodivanilina es una molécula sintética formada por la unión de dos ácidos vanílicos, con este estudio se demuestra la capacidad de bacterias ruminales para degradar fenoles.

También se ha reportado la desmetoxilación de ácido monobenzoide en borregos que recibieron infusión ruminal de vanilato. Los benzoides metoxilados se encuentran normalmente en la dieta de los rumiantes como derivados de los ácidos cinámico y benzóico unidos por enlaces éster a carbohidratos. Las bacterias en el rumen modifican los benzoides mediante una deshidroxilación, descarboxilación de derivados de ácido benzóico y desmetoxilación de derivados metiléter (Chesson *et al.*, 1982; Martin, 1982a). Los productos de la degradación del benzoato son acetato, CO₂, H₂, los cuales son el sustrato para la formación de metano (Shelton y Teidje, 1984).

Fibra y sustitutos de fibra en dietas para rumiantes

En los sistemas de producción intensivo de ovinos y bovinos, las dietas contienen 60 a 80 % de concentrados y fuentes fibrosas como el rastrojo de maíz, paja de avena y paja de cebada (El-Sabban *et al.*, 1972). Estos componentes de la dieta son importantes ya que con los primeros se cubren los requerimientos de energía, proteína, vitaminas y minerales para mantenimiento y producción, mientras que los ingredientes fibrosos favorecen el buen funcionamiento del rumen, y cuando no se incluyen en cantidades adecuadas se pueden producir problemas metabólicos, siendo la acidosis el principal (Owens *et al.*, 1988). Debido a la disminución en la digestibilidad de cualquier forraje con dietas altas en grano, es necesario usar forrajes de menor calidad nutritiva y costo en la formulación de dietas para animales en engorda como por ejemplo pajas, rastrojos o materiales inertes (Dinius *et al.*, 1970; Plata, 1992; Owens y Secrist, 1994).

En pruebas metabólicas para evaluar la eficiencia productiva en rumiantes, se han incluido fuentes alternas de fibra en dietas altas en grano, dentro de las que destacan el papel periódico: 8.0 y 12 % (Daniels *et al.*, 1970), vainas de arroz: 20 % (White y Reynolds, 1969; White *et al.*, 1969), polietileno en diferentes proporciones (Oltjen *et al.*, 1962; Boling *et al.*, 1969; González-Aranda *et al.*, 1972), conchas de ostra: 2.5 % del material fibroso (Perry *et al.*, 1968), Bagazo de caña: 10 % (Dinius *et al.*, 1970), aserrín de encino: 15 % (El-Sabban *et al.*, 1972) y pino: 10 y 30 % (Slyter y Kamstra, 1974; Guerra, 2004). Con relación al PET, Pérez (2006), al utilizar 10 y 20 % de PET molido en dietas integrales concentradas para borregos en finalización,

no encontró efectos negativos en la eficiencia productiva, concluyendo que puede utilizarse este sustrato como sustituto de fibra para rumiantes.

OBJETIVO

Evaluar el efecto de la adición de 10 y 20 % de envases de PET molido como fuente de fibra en dietas para borregos en engorda, sobre algunas variables productivas, fermentativas y microbiológicas.

HIPÓTESIS

La adición de 10 y 20 % de envases de PET molido en lugar de rastrojo de maíz en una dieta para borregos en engorda, no afecta negativamente las variables productivas, fermentativas y microbiológicas.

MATERIALES Y MÉTODOS

La presente investigación se realizó en los laboratorios de Microbiología Ruminal, Nutrición Animal y en la Unidad Experimental ovina, pertenecientes al Programa en Ganadería del Colegio de Postgraduados, ubicados en Montecillo, Texcoco, Edo. de México. El clima de la región es C (wo) (w) b (i') g, el cual corresponde a un clima templado, con una época seca en invierno, temperatura media anual de 15 °C y una precipitación media anual de 644 mm; la región está ubicada entre los 98° 53' O y 19° 20' N y a una altitud de 2250 m (García, 1987).

Análisis químico de la dietas

A las dietas experimentales se les determinó el contenido de materia seca, cenizas, nitrógeno total por el método de microkjeldahl (AOAC, 1990); fibra detergente neutro (FDN) y fibra detergente ácido (FDA) de acuerdo a la metodología descrita por Van Soest *et al.* (1991).

Animales

Se utilizaron 30 borregos machos enteros criollos con un peso vivo promedio de 24.87 ± 1.7 kg. Antes de iniciar el experimento, los borregos tuvieron un periodo de adaptación de 10 d a las dietas experimentales (Cuadro 1). Durante este periodo

los borregos se desparasitaron interna y externamente con 0.5 mL de Ivermectina y clorsulón (Virbemec F[®]) vía subcutánea; además, se aplicó Bacterina toxoide contra clostridios (2.5 mL animal⁻¹; Bacterina Toxoide Chinoín CEHS4[®]) y vitamina A, D y E (Vigantol[®]; 1 mL animal⁻¹). Los borregos se identificaron, y se alojaron en jaulas individuales (1 x 1.96 m) con comederos y bebederos.

Dietas experimentales

Las dietas se formularon con el programa NUTRION[®] (NUTRION, 2002) de acuerdo con los requerimientos nutritivos establecidos en las tablas del NRC (1985) para borregos machos enteros con un peso promedio inicial de 20 a 25 kg y una ganancia diaria de peso (GDP) de 200 g.

Molido de las botellas de polietilentereftalato (PET)

Las botellas de polietilentereftalato (PET) fueron obtenidas del Centro de Acopio del Departamento de Agroecología, en la Universidad Autónoma Chapingo, se separaron las etiquetas y las tapas, se trituraron en una compactadora universal para plásticos y se molieron en un molino para rígidos con una criba de 5 mm de Ø.

Tratamientos experimentales

Los tratamientos (T) evaluados fueron los siguientes: T1, dieta testigo; T2, dieta testigo + 10 % de PET; T3, dieta testigo + 20 % de PET. En el Cuadro 1 se presenta la composición química y nutritiva de las tres dietas experimentales. Estas

se formularon a un nivel nutricional isoproteico e isoenergético, la principal diferencia estuvo en los niveles de PET, rastrojo de maíz y urea. Los borregos fueron alimentados diariamente a las 08:00 y 16:00 h *ad libitum*.

Cuadro 1. Composición y nutrientes de las dietas experimentales (% BS⁺) para cada tratamiento (T)[¶]

Ingredientes	T (0 % PET)	T + 10% PET	T + 20% PET
Rastrojo maíz	20.00	10.00	-
PET* molido	-	9.82	19.64
Maíz amarillo	41.00	41.00	41.00
Pasta de soya	13.05	13.05	13.05
Alfalfa achicalada	20.00	20.00	20.00
Melaza	3.00	3.00	3.00
Urea	0.95	1.12	1.30
Premezcla mineral [£]	2.00	2.00	2.00
Total	100.00	100.00	100.00
PT, %	16.70	16.70	16.70
EM, Mcal kg ⁻¹	2.51	2.51	2.51
EN _g , Mcal kg ⁻¹	1.01	1.01	1.01
FDN, %	23.20	28.69	34.18
Ca, %	0.65	0.62	0.59
P, %	0.36	0.35	0.34
Relación Ca:P	1.80	1.78	1.75

⁺Dietas formuladas con el programa NUTRION[®] (NUTRION, 2002).

[¶]Calculado con base a la información del NRC para ganado ovino (1985).

[£]La premezcla mineral Ovinomin[®] contenía: P, 5.0 %; Ca, 13.0 %; Mg, 6.0 %; S, 0.18 %; Na, 16.0 %; Cl, 24.0 %; Zn, 3,000 ppm; Metionina de Zn, 250 ppm; Mn, 1,100 ppm; Co, 125 ppm; I, 40 ppm; Se, 5 ppm.

*PET: polietilentereftalato.

Muestreo de líquido ruminal

Se colectaron muestras de líquido ruminal (100 mL animal⁻¹) vía esofágica por medio de una sonda, 3 h después de la alimentación de las 08:00 h. Para esto se muestrearon los diez animales de cada tratamiento a los 0, 15, 30, 45 y 60 d después de iniciar el experimento, generando 30 muestras por período de muestreo. En las muestras de líquido ruminal se midieron las variables ruminales fermentativas (pH, N-NH₃ y AGV) y microbiológicas (concentración de bacterias totales, celulolíticas y protozoarios).

VARIABLES EVALUADAS

Consumo y rechazo de alimento

Se midió diariamente el alimento consumido registrando la cantidad ofrecida y la rechazada, el consumo voluntario se obtuvo por la diferencia entre ambos valores (g d⁻¹).

Cambios de peso vivo

Los borregos fueron pesados al inicio del experimento y posteriormente cada 15 d, antes de ofrecer el alimento (08:00 h). La ganancia diaria de peso (GDP, kg) se calculó por diferencia entre el peso final menos el peso inicial de cada animal, dividido entre los días transcurridos en el periodo.

Eficiencia alimenticia

Se obtuvo dividiendo la GDP (kg) entre el consumo de materia seca del alimento (kg).

Digestibilidad aparente de materia seca de las dietas mediante colecta total de heces

Se realizaron tres muestreos a los 20, 40 y 60 d de iniciado el experimento. De cada tratamiento se seleccionaron al azar cinco borregos; para cada animal se hizo una colecta total de heces durante tres días consecutivos. De las heces colectadas se formó una muestra compuesta, de la que se tomó una submuestra del 10 % para determinar la cantidad de materia seca. La digestibilidad aparente se calculó mediante la siguiente fórmula (Merchen, 1988).

$$\text{Digestibilidad aparente de la MS} = \frac{\text{MS consumida } \left(\frac{g}{d}\right) - \text{MS fecal } \left(\frac{g}{d}\right)}{\text{MS consumida } \left(\frac{g}{d}\right)} \times 100$$

Cantidad de PET en excretas

Se determinó en tres periodos: 20, 40 y 60 d. De una submuestra de heces seca, se molieron 15 g y se pasaron por un tamiz con tamaño de poro de 1 mm. Luego se colocaron en bolsa de tela organza, se lavaron en agua corriente hasta que

el agua proveniente de las bolsas era totalmente clara y se colocaron las bolsas dentro de una estufa a 55 °C durante 48 h para deshidratarlas. La cantidad de PET en excretas se calculó tomando en cuenta el peso seco de la submuestra menos el peso seco del PET recuperado. Este valor se aplicó a la materia seca excretada total y se obtuvo la cantidad total de PET excretado. La cantidad resultante (g) se transformó a por ciento de PET excretado de la materia seca total de heces.

Digestibilidad aparente de materia seca mediante la técnica de cenizas insolubles en ácido (CIA)

Se calculó en tres periodos después de iniciar el experimento: 20, 40 y 60 d. Se tomó una submuestra de 5 g de las heces secas y molidas y se determinó la cantidad de CIA. Para calcular el contenido de CIA, en los tratamientos 2 y 3, se tomó en cuenta el porcentaje de PET en heces previamente calculado. Para obtener el porcentaje de CIA se consideró que el 100 % de PET contenido en la muestra es insoluble en ácido, por tanto se sumó a la cantidad de CIA obtenido por calcinación y digestión en ácido. La determinación de CIA fue realizada de acuerdo a la metodología propuesta por Geerken *et al.* (1987).

Digestibilidad aparente de PET

La digestibilidad aparente se calculó por diferencia entre la cantidad de PET consumido menos la cantidad de PET excretado dividido entre la cantidad de PET consumido; y el resultado multiplicado por 100 (Merchen, 1988).

Retención de PET

La retención de PET se obtuvo por diferencia de la cantidad de PET consumido menos la cantidad de PET excretado.

pH ruminal

Se midió inmediatamente después de recolectar el líquido ruminal con un potenciómetro marca Orion modelo 710A, calibrado a pH 4.0 y 7.0 (ORION, 1996).

Concentración de nitrógeno amoniacal

Se utilizó la técnica de McCullough (1967). El líquido ruminal recolectado (4 mL) se acidificó con 1 mL de ácido metafosfórico (solución al 25 % en agua), la muestra se centrifugó a 14,000 rpm por 5 min y del sobrenadante se transfirieron 1.5 mL a viales de vidrio. Para determinar la concentración de N-NH₃ se tomaron

20 μL de muestra y se depositaron en tubos de 18 x 150 mm, los que contenían 1.0 mL de fenol y 1.0 mL de hipoclorito de sodio basicado con hidróxido de sodio. Los tubos se incubaron a 39 °C durante 30 min, posteriormente se agregaron 5.0 mL de agua destilada para diluir la muestra. La concentración de nitrógeno amoniacal se midió a una absorbancia a 630 nm en un espectrofotómetro Perkin Elmer UV-VIS modelo Lambda 40. Se utilizó un blanco como referencia, el cual contenía 1.0 mL de fenol, 1.0 mL de hipoclorito de sodio y 5.0 mL de agua destilada. Para calcular la concentración de nitrógeno amoniacal, se preparó una curva estándar calibrada con nueve concentraciones molares de N-NH_3 (0, 2.5, 5.0, 10.0, 15, 20, 25, 30 y 35 mg N-NH_3 dL^{-1}).

Concentración de ácidos grasos volátiles (AGV)

Se determinó una vez acidificado el líquido ruminal con ácido metafosfórico, en una proporción 4:1 (muestra:ácido metafosfórico). La muestra se centrifugó a 14,000 rpm por 15 min y se recolectó el sobrenadante (1.5 mL). La concentración de AGV de las muestras se determinó por cromatografía de gases en un cromatógrafo Perkin Elmer, Modelo Clarus 500 con columna capilar Elite FFAP. El gas acarreador utilizado fue hidrógeno con flujo de 15 mL min^{-1} . Se inyectó 1 μL de muestra, con temperatura de inyector de 200 °C, detector de 250 °C y una temperatura de horno de 140 °C. El tiempo total por corrida fue de 7 min.

Concentración de bacterias ruminales totales

Se calculó utilizando la técnica del recuento directo en microscopio a través de una cámara Petroff-Hausser (Parthnership® modelo SQMM Horsham PA 19044). El conteo se realizó en 10 cuadros (0.05 x 0.05 mm) usando un microscopio de contraste marca Olympus® modelo BX51 a una magnificación de 1000x. El procedimiento se realizó de acuerdo a lo descrito en el manual de operación SIGMA (1990). La concentración de bacterias totales por mL de fluido ruminal se calculó usando la siguiente fórmula:

$$\text{Bacterias totales mL}^{-1} \text{ FR} = (\text{Promedio}) (\text{Factor de dilución}) (2 \times 10^7)$$

Concentración de bacterias celulolíticas ruminales

Se preparó un medio de cultivo líquido anaerobio (Cuadro 2) de acuerdo a la metodología descrita por Cobos y Yokoyama (1995). El medio se depositó en tubos de cultivo (13 x 100 mm) a razón de 4.5 mL por tubo, los cuales permanecieron 72 h en incubación a 38 °C para comprobar esterilidad. Transcurrido este periodo, se inocularon dos series de tubos por cada repetición con 0.5 mL de líquido ruminal para cada tratamiento; las diluciones fueron 10^{-1} a 10^{-10} y después de la inoculación los tubos se incubaron a 38 °C por 10 d. Al término de la incubación se hicieron las lecturas y los tubos positivos fueron aquéllos con una marcada degradación de papel Whatman No. 541. Para determinar las concentraciones de bacterias se utilizó la técnica del número más

probable (NMP; Harrigan y McCance, 1979). La concentración de bacterias celulolíticas se determinó a los 0, 15, 30, 45 y 60 d de iniciado el experimento.

Cuadro 2. Composición del medio de cultivo para el conteo de bacterias celulolíticas

Compuesto	Cantidad por 100 mL
Agua destilada (mL)	52.6
Líquido ruminal clarificado (mL) ⁽¹⁾	30.0
Solución mineral I (mL) ⁽²⁾	5.0
Solución mineral II (mL) ⁽³⁾	5.0
Rezarsurina 0.1 % (mL) ⁽⁴⁾	0.1
Carbonato de sodio, sol. 8 % (mL) ⁽⁵⁾	5.0
Sol. cisteína sulfito de sodio (mL) ⁽⁶⁾	2.0
Peptona de soya (g)	0.2
Extracto de levadura (g)	0.1
Glucosa (g)	-
Celobiosa (g)	-
Almidón (g)	-
Tira de papel Whatman 541	Una tira por tubo

⁽¹⁾ Líquido ruminal clarificado previamente filtrado en una gasa triple y centrifugado a 12,000 rpm, por 15 min tres veces y esterilizado por 15 min a 15 psi, 121 °C.

⁽²⁾ Contiene 6 g de K₂HPO₄ por 1000 mL de H₂O.

⁽³⁾ Contiene 6 g de KH₂PO₄; 6 g (NH₄)₂SO₄; 12 g NaCl; 2.45 g MgSO₄ y 1.6 g de CaCl^{*}H₂O por 1000 mL de H₂O (Bryant y Robinson, 1962).

⁽⁴⁾ Agregar 0.1 mL solución al 1 % en agua y aforar a 100 mL de agua destilada.

⁽⁵⁾ 8 g de carbonato de sodio en 100 mL de agua destilada.

⁽⁶⁾ 2.5 g de L- cisteína (disuelta en 15 mL de 2N NaOH); 2.5 g de Na₂S-9H₂O y 0.1 mL de resarzurina en un volumen final de 100 mL.

Concentración de protozoarios ruminales totales

Se utilizó una cámara Neubauer y un microscopio Zeiss Axiostar a una magnificación total de 400x. Para conservar la integridad de los protozoarios se fijaron 5 mL de líquido ruminal en 5 mL de una solución para conteo de protozoarios (5 mL solución mineral I + 5 mL solución mineral II + 3 mL formaldehído al 3 % aforadas a 87 mL con agua destilada; Dehority, 2003). Se contaron treinta campos para sacar el promedio de cada muestra. La concentración de protozoarios totales por mL de fluido ruminal se calculó usando la siguiente fórmula:

$$\text{Protozoarios totales mL}^{-1} \text{ FR} = (\text{Promedio}) (\text{Factor de dilución}) (10^4)$$

Diseño experimental y análisis estadístico

Se utilizó un diseño completamente al azar con diez repeticiones por tratamiento; las variables fueron CMS, GDP, eficiencia alimenticia, pH ruminal, concentración de bacterias y protozoarios ruminales totales, proporción de AGV, y concentración de nitrógeno amoniacal. Para evaluar las variables digestibilidad aparente de materia seca, concentración de bacterias celulolíticas, cantidad de PET en heces, retención y digestibilidad aparente de PET, se utilizaron cinco repeticiones por tratamiento. La comparación de medias entre tratamientos se realizó mediante la prueba de Tukey (Steel y Torrie, 1988).

Para evaluar el efecto del tiempo se utilizó el procedimiento MIXED (SAS, 1999) de acuerdo con lo propuesto por Littell *et al.* (1998) y Wang y Goonewardene (2004). Para el análisis se tomó en cuenta la opción AR (1) correspondiente a la estructura de la covarianza. La concentración de bacterias celulolíticas se analizó mediante intervalos de confianza descritos por Harrigan y McCance (1979).

El modelo estadístico utilizado fue el siguiente:

$$Y_{ijk} = \mu + \bar{\delta}_i + d_{ij} + t_k + (\bar{\delta}t)_{ij} + \varepsilon_{ijk}$$

Donde,

Y_{ijk} = variable de respuesta

μ = media general

$\bar{\delta}_i$ = efecto fijo del i-ésimo tratamiento

d_{ij} = efecto aleatorio asociado con el j-ésimo borrego en el i-ésimo tratamiento

t_k = efecto fijo del k-ésimo periodo

$(\bar{\delta}t)_{ik}$ = efecto fijo de la interacción del i-ésimo tratamiento con el k-ésimo periodo

ε_{ij} = error aleatorio asociado con el j-ésimo borrego en el i-ésimo tratamiento al k-ésimo muestreo.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Análisis químico de las dietas

Los valores para contenido de materia seca y proteína total (Cuadro 3) fueron similares entre los tratamientos, lo que concuerda con lo planteado en la elaboración de las dietas. El contenido de proteína total se encuentra dentro del valor óptimo sugerido por las tablas del NRC (1985), para ovinos en finalización, con una ganancia esperada mayor a 200 g d^{-1} .

Las dietas que incluyeron envases de polietilentereftalato molido, tuvieron 6.73 % (PET-10) y 13.5 % (PET-20) más FDN, así como 51.02 % (PET-10) y 105.94 % (PET-20) más FDA que la dieta testigo. Esta tendencia se debe a que durante la digestión ácida y alcalina este compuesto no se digiere; por tal razón, los valores para FDN y FDA representaron 100 %. El contenido de cenizas fue 13.95 % (PET-10) y 17.34 % (PET-20) menor que el tratamiento testigo, debido a que durante la calcinación a $550 \text{ }^{\circ}\text{C}$ el PET no produce cenizas.

Aún cuando no hubo diferencias entre tratamientos, los valores determinados de FDN están dentro del rango óptimo para mantener una función ruminal eficiente. Al respecto Mertens (1997), menciona que con un mínimo de 20 % de FDN se evitan problemas de acidosis, laminitis y desplazamiento abomasal.

Cuadro 3. Análisis bromatológico (%) de las dietas experimentales y de envases de polietilentereftalato molido (PET)

Compuesto	PET-0	PET-10	PET-20	PET*
Materia Seca	93.59	95.96	96.49	99.51
Proteína Total	17.75	17.92	18.84	-
FDN	22.44	23.95	25.39	100 [¶]
FDA	10.27	15.51	21.15	100 [¶]
Cenizas	7.38	6.35	6.10	0

*Botellas de polietilentereftalato molido con criba de 5 mm. [¶]Dado que el PET no sufre alteración durante la digestión ácida y alcalina, se consideró que el 100 % es FDN y FDA. PET-0, PET-10 Y PET-20; dietas con 0, 100 y 200 g de PET por kg de MS.

Consumo de materia seca

Para el primer y segundo periodo el consumo de materia seca (CMS) fue mayor ($P \leq 0.05$) para P-10, comparado con P-0 y P-20 (Cuadro 4). A partir del tercer periodo no hubo diferencias entre los tratamientos, situación similar al analizar la información con el promedio de todo el periodo experimental. Por tanto, la inclusión de 20 % de PET a las dietas de borregos en crecimiento no afectó negativamente el CMS.

El CMS observado en este experimento difiere de los valores reportados por Pérez (2006), quién no obtuvo diferencias ni por períodos ni en promedio general, en borregos en finalización alimentados con dietas que tenían 10 y 20 % de PET molido, obteniendo consumos con valores de 0.986 y 0.966 kg animal⁻¹ d⁻¹, respectivamente.

Cuadro 4. Consumo de materia seca (kg animal⁻¹ d⁻¹) de borregos alimentados con diferentes cantidades de PET en la dieta

Periodos ⁺	Tratamientos			
	PET-0	PET-10	PET-20	EEM
1	0.904 ^b	1.009 ^a	0.912 ^b	0.042
2	1.038 ^{ab}	1.121 ^a	1.023 ^b	0.042
3	1.114	1.133	1.163	0.042
4	1.248	1.287	1.250	0.042
Promedio	1.076	1.138	1.087	0.032

^{a,b} = medias con literales diferentes en una hilera difieren estadísticamente ($P \leq 0.05$). EEM = error estándar de la media. ⁺Periodos de 15 d. PET-0, PET-10 y PET-20; dietas con 0, 100 y 200 g de PET por kg de MS.

Ganancia diaria de peso

Cuando se utilizan dietas con altas concentraciones de ingredientes energéticos, los animales pueden desarrollar diarreas mecánicas o infecciones digestivas (Owens *et al.*, 1998). Durante los 10 días de la fase de adaptación del presente estudio no se presentó ningún problema digestivo en los animales con PET-0, PET-10 ó PET-20. Lo que permite suponer que hubo buena adaptación tanto del

animal como de los microorganismos ruminales a las dietas experimentales y que la adición de PET en las dietas resultó inocua.

Las dietas se formularon para obtener una GDP de 200 a 250 g animal⁻¹ d⁻¹. En los dos primeros periodos esta ganancia fue inferior a 200 g para los tres tratamientos, excepto para el PET-10, que fue de 222 g (Cuadro 5); debido en parte, al mayor consumo de materia seca que se presentó en los animales de este tratamiento (Cuadro 4). Fue hasta el tercer periodo que los animales alcanzaron una ganancia de peso superior a 200 g. Los tratamientos PET-10 y PET-0 presentaron mejor comportamiento en los periodos 1 y 2, comparados con el tratamiento que incluyó 20 % de PET en la dieta (PET-20). Esta tendencia fue diferente a la encontrada por Pérez (2006), al obtener ganancias menores de 200 g sólo en el primer período con dietas que incluían 10 y 20 % de PET molido.

Aunque al final del experimento (periodos 3 y 4) no se encontraron diferencias entre tratamientos para esta variable, al análisis de la información promedio para todo el periodo experimental, indica que la inclusión de 20 % de PET en la dieta afectó negativamente la ganancia diaria de peso, comparado con la dieta que tenía 10 % de PET, pero sin efecto alguno al compararlo con el tratamiento testigo (PET-0). Al comparar la GDP entre los tratamientos PET-10 y PET-20, era predecible que se presentara una menor GDP en los animales que consumieron una cantidad mayor de PET (PET-20), debido principalmente, a la naturaleza inerte de este material. Un resultado similar, usando otra fuente de fibra inerte fue reportado por Slyter y Kamstra (1974), quienes demostraron que la inclusión de aserrín, mayor al 15 % de la MS, afecta negativamente diferentes variables productivas, incluyendo la GDP.

En un experimento similar Pérez (2006), reporta que no hubo diferencias en ganancia de peso en ovinos al incluir 10 y 20 % de PET en las dietas experimentales, obteniendo una GDP de 207 y 206 g, respectivamente, sin diferencias ($P>0.05$) incluso, con el tratamiento testigo (216 g d⁻¹). Con la utilización de otros materiales inertes como el aserrín de pino Guerra (2004), reportó una tendencia similar al incluirlo en un 30 % a la dieta de borregos en finalización, obteniendo una ganancia de 246 g d⁻¹ en la dieta testigo que contenía rastrojo de maíz y de 203 g d⁻¹ en los animales que consumieron la dieta que contenía aserrín molido en sustitución del rastrojo de maíz.

Cuadro 5. Ganancia de peso (g animal⁻¹d⁻¹) de borregos alimentados con diferentes cantidades de PET en la dieta

Periodos ⁺	Tratamientos			
	PET-0	PET-10	PET-20	EEM
1	172.00 ^{ab}	227.40 ^a	143.20 ^b	33.29
2	178.60 ^{ab}	196.30 ^a	157.70 ^b	33.29
3	243.70	214.10	247.50	33.29
4	216.43	220.90	223.90	33.29
Promedio	202.58 ^{ab}	214.68 ^a	193.07 ^b	15.53

No hubo diferencias significativas ($P>0.05$). EEM = error estándar de la media.

⁺Periodos de 15 d. PET-0, PET-10 y PET-20; dietas con 0, 100 y 200 g de PET por kg de MS.

Eficiencia alimenticia

La eficiencia de la utilización del alimento está dada por la relación GDP/CMS (Cuadro 6). Solamente, en el primer periodo de evaluación, se determinó una diferencia entre tratamientos ($P \leq 0.05$), siendo menor la eficiencia alimenticia en el tratamiento PET-20. No obstante, a partir del segundo periodo la eficiencia alimenticia fue similar entre tratamientos; de hecho, esta tendencia se mantuvo al analizar la eficiencia alimenticia promedio de todo el experimento. Se esperaba que la eficiencia alimenticia fuera menor en los borregos que consumieron la dieta que incluía PET, debido a su mayor contenido de FDN y FDA.

Estos resultados concuerdan con los obtenidos por Pérez (2006), quién evaluó las mismas proporciones de PET (10 y 20 %) en dietas para ovinos en crecimiento, pero, difieren de los resultados de Guerra (2004), quien, obtuvo una menor eficiencia alimenticia (0.13) cuando utilizó un 30 % de aserrín de pino en dietas para borregos en finalización; en la misma investigación al incluir 30 % de rastrojo de maíz la eficiencia obtenida fue de 0.12.

En general, la eficiencia alimenticia disminuye cuando aumenta el contenido de FDN en dietas, debido a una menor digestibilidad de la dieta, lo que se traduce en una menor cantidad de energía disponible para mantenimiento y ganancia de peso (Gill y Oldham, 1993). En este estudio solamente la inclusión de 20 % de PET afectó negativamente la eficiencia alimenticia en el primer periodo de evaluación; no obstante, los borregos que recibieron 10 % de PET en la dieta tuvieron una eficiencia alimenticia similar a la de los borregos del tratamiento testigo (PET-0) aún cuando el

tratamiento PET-10 tenía un mayor contenido de FDN que la dieta testigo (Cuadro 3), lo que sugiere que la dieta con 10 % de PET puede ser utilizada por el animal sin afectar negativamente diferentes variables productivas como GDP y CMS.

Cuadro 6. Eficiencia alimenticia (CMS/GDP) de borregos alimentados con diferentes cantidades de PET en la dieta

Periodos ⁺	Tratamientos			EEM
	PET-0	PET-10	PET-20	
1	0.207 ^{ab}	0.224 ^a	0.155 ^b	0.03
2	0.177	0.177	0.153	0.03
3	0.219	0.191	0.213	0.03
4	0.163	0.161	0.170	0.03
Promedio	0.191	0.188	0.173	0.01

No hubo diferencias significativas ($P > 0.05$). EEM = error estándar de la media.

⁺Periodos de 15 d. PET-0, PET-10 y PET-20; dietas con 0, 100 y 200 g de PET por kg de MS.

Digestibilidad aparente de las dietas

Durante el primer periodo experimental (0-20 d), el tratamiento PET 20 presentó la menor ($P \leq 0.05$) digestibilidad aparente (63.92 %) comparado con los tratamientos PET-0 y PET-10 en los cuales se obtuvo un 69.54 % y 69.19 % de digestibilidad (Cuadro 7). Para el segundo y tercer período experimental no hubo diferencias ($P > 0.05$) entre tratamientos.

Al analizar el promedio de los tres periodos, se determinó la misma tendencia que hubo en el primer periodo, esto es, a medida que se incluyó mayor cantidad de

PET en las dietas la digestibilidad aparente fue disminuyendo, siendo mayor en PET-0 (70.70 %), seguida de PET-10 (69.64 %) y menor en PET-20 (67.20 %), con una diferencia significativa ($P \leq 0.05$) entre PET-0 y PET-20. Este resultado se cree, se debió a la naturaleza inerte del PET y al mayor contenido de FDN y FDA en la dieta del PET-20 (Cuadro 3).

Cuadro 7. Digestibilidad aparente (colecta total de heces, %) de la dieta de borregos alimentados con diferentes cantidades de PET en la dieta

Periodos ⁺	Tratamientos			
	PET-0	PET-10	PET-20	EEM
1	69.54 ^a	69.19 ^a	63.92 ^b	2.24
2	70.46	67.67	68.00	2.24
3	72.12	72.06	69.68	2.24
Promedio	70.70 ^a	69.64 ^{ab}	67.20 ^b	1.50

^{a,b} = medias con literales diferentes en una hilera difieren estadísticamente ($P \leq 0.05$). EEM = error estándar de la media. ⁺Periodos de 20 d. PET-0, PET-10 y PET-20; dietas con 0, 100 y 200 g de PET por kg de MS.

Al analizar la digestibilidad aparente de las dietas por el método de cenizas insolubles en ácido (CIA) en heces (Cuadro 8), se obtuvo la misma tendencia determinada con el método de digestibilidad aparente por colecta total de heces. Sin embargo, hubo una mayor diferencia entre tratamientos. Así, la digestibilidad aparente fue mayor ($P \leq 0.05$) en PET-0 vs PET-10 y PET-20; sin diferencias significativas ($P > 0.05$) entre PET-0 y PET-20 en los periodos 1 y 2 que corresponde a 20 y 40 d de iniciado el experimento. En el periodo 3 (60 d) se determinó una diferencia ($P \leq 0.05$) en todos los tratamientos; siendo mayor la digestibilidad en PET-

0, y menor en PET-20. Al analizar los promedios de toda la fase experimental la tendencia fue que, a medida que se incluyó mayor cantidad de PET en la dieta, la digestibilidad aparente disminuyó ($P \leq 0.05$); con valores de 68.80 (PET-0), 64.23 (PET-10) y 62.15% (PET-20). De acuerdo con estos resultados, el método de CIA es más estricto que el método de colecta total de heces, para estimar la digestibilidad aparente de la dieta.

En general, en dietas con alto contenido de FDN hay una menor digestibilidad de la dieta lo que se traduce en una menor cantidad de energía disponible para mantenimiento y ganancia de peso (Gill y Oldham, 1993). Consecuentemente, en el presente estudio, la menor digestibilidad aparente observada con ambos métodos fue para el tratamiento tres con mayor inclusión de PET (20 %): 67.20 % (coleta total de heces) y 62.15 % (CIA). No obstante, sólo se vieron afectadas negativamente las variables productivas GDP y CMS en el T3. Guerra (2004), tampoco obtuvo efectos negativos sobre estas variables al incluir aserrín de pino (30 %) como material inerte a dietas para ovinos en finalización.

Cuadro 8. Digestibilidad aparente (CIA; %) en borregos alimentados con diferentes cantidades de PET en la dieta

Periodos ⁺	Tratamientos			
	PET-0	PET-10	PET-20	EEM
1	67.09 ^a	63.47 ^b	60.64 ^b	1.44
2	71.92 ^a	65.62 ^b	62.95 ^b	1.44
3	67.40 ^a	63.61 ^b	62.86 ^b	1.44
Promedio	68.80 ^a	64.23 ^b	62.15 ^c	0.85

^{a,b,c} = medias con literales diferentes en una hilera difieren estadísticamente ($P \leq 0.05$). EEM = error estándar de la media. ⁺Periodos de 20 d. PET-0, PET-10 y PET-20; dietas con 0, 100 y 200 g de PET por kg de MS.

pH ruminal

El pH ruminal es el resultado de la cantidad de ácidos producidos por los microorganismos, balanceados por la tasa de absorción de estos ácidos a través de la pared ruminal y la capacidad amortiguadora de la saliva que llega al rumen (Dehority, 2003). El pH del rumen en animales sanos tiene un rango de 6.2 a 7.0 (Hungate, 1966).

No hubo diferencias ($P > 0.05$) en pH ruminal entre tratamientos al analizar los promedios (Cuadro 9). Solamente al inicio (día 1) hubo diferencias en el pH ($P \leq 0.05$) siendo menor en el tratamiento PET-10. Sin embargo, el pH determinado en todos los tratamientos estuvo dentro de un rango normal. Estos resultados demuestran que la inclusión de PET en raciones de borregos para engorda, no tiene efecto negativo en el pH ruminal, sin efectos negativos en la función ruminal. El pH ruminal obtenido

se encuentra dentro del intervalo (5.5-7.0) reportado por Dehority y Tirabasso (2001), para animales sanos alimentados con una ración normal. Otros autores (Franzolin y Dehority, 1996), mencionan que la disminución del pH ruminal a valores menores de 6.0, sólo se presenta en animales alimentados con dietas altas en granos sin un proceso de adaptación.

En todos los periodos y tratamientos evaluados el pH varió entre 6.19 y 6.51, sin presentar una tendencia o una variación importante para los tres tratamientos; al respecto Hungate (1966) y Owens y Goetsch (1988), mencionan que esta variable es la que más cambia en el ambiente fermentativo ruminal. Por otro lado el pH promedio no fue inferior a 6.2 para los borregos que recibieron PET en la dieta, ni para los del tratamiento testigo. De esta forma se mantuvo un pH ruminal similar o superior al mínimo requerido para no afectar la actividad de las bacterias celulolíticas, ya que a valores de pH inferiores de 6.3 a 6.4, la tasa de degradación de la celulosa comienza a disminuir marcadamente (Hiltner y Dehority, 1983; Orskov y Ryle, 1990).

Al alimentar borregos con dietas que contenían 30 % de aserrín de pino o rastrojo de maíz en la misma proporción, Guerra (2004) obtuvo valores de pH promedio inferiores a 6.2, menores a los obtenidos en el presente estudio, pero que no repercutieron en el CMS; la misma tendencia encontró El-Sabban *et al.* (1972), con un pH de 5.35 a 5.85 al dar en la dieta para ganado de engorda un 15 % de aserrín de encino. También White *et al.* (1969), reportaron un pH similar (6.04) al proporcionar 20 % de paja de arroz y de 6.65 cuando el sustrato (20 %) fue cascarilla de arroz; este mismo intervalo fue obtenido por González-Aranda *et al.* (1972), al proporcionar 1.8 kg d⁻¹ de tiras de polietileno corrugado a vacas productoras de leche, sin mostrar gran variación.

Sin embargo, resultados contrastantes fueron obtenidos por Pérez (2006), al emplear las mismas proporciones de PET (10 y 20 %) en dietas para borregos en finalización, con valores promedios de 7.25 y 7.30; este comportamiento fue atribuido a que el PET pudo favorecer la rumia, lo que provocaría un aumento en el flujo de saliva hacia el rumen. De esta forma, el aporte de bicarbonato de sodio y fosfatos mantiene casi un pH neutro en el rumen (Jouany, 1994; Stewart y Bryant, 1988), factor determinante en la actividad y crecimiento de las poblaciones microbianas del rumen, las cuales requieren un pH entre 6.2 y 7.0 (Yokoyama y Johnson, 1988).

Cuadro 9. pH del líquido ruminal extraído 3 h después de la alimentación a borregos alimentados con diferentes cantidades de PET en la dieta.

Periodos ⁺	Tratamientos			
	PET-0	PET-10	PET-20	EEM
Ci	6.40 ^{ab}	6.21 ^b	6.51 ^a	0.12
1	6.25	6.21	6.15	0.12
2	6.38	6.29	6.43	0.12
3	6.20	6.22	6.19	0.12
4	6.26	6.29	6.47	0.12
Promedio	6.30	6.25	6.35	0.05

^{a,b} = medias con literales diferentes en una hilera difieren estadísticamente ($P < 0.05$).

EEM = error estándar de la media. ⁺Periodos de 15 d.

Ci = pH inicial al día 1 de iniciado el experimento. PET-0, PET-10 y PET-20; dietas con 0, 100 y 200 g de PET por kg de MS.

Los valores promedio de pH obtenidos en el presente estudio (6.25 y 6.35) para los tratamientos PET-10 y PET-20, difieren de los valores alcalinos (7.25 y 7.3, respectivamente) reportados por Pérez (2006); esta diferencia puede atribuirse, en

parte, a que en el estudio de Pérez (2006) se uso PET con tamaño de partícula mayor (8-10 mm) favoreciendo el tiempo de rumia y flujo de saliva a rumen, como lo respalda el estudio hecho por Oltjen *et al.* (1962), al incluir 1, 2 y 4 % de polietileno molido a ovinos alimentados con dietas purificadas; situación que no ocurrió en el presente experimento dado que el tamaño de partícula de PET molido fue ≤ 5 mm.

Proporción molar de ácidos grasos volátiles (AGV)

La producción de ácidos grasos volátiles en el rumen es altamente variable, comúnmente la cantidad total se encuentra en el intervalo de 60 a 150 mM L⁻¹ (Bergman, 1990). Los microorganismos ruminales fermentan los polisacáridos de la dieta a ácidos grasos volátiles de cadena corta que son utilizados por el hospedero para obtención de energía (Wolin y Miller, 1988). Las proporciones molares (acetato:propionato:butirato) varían de 65:25:10 con dietas altas en forraje a 50:40:10 con dietas altas en concentrados (INRA, 1990; Owens y Goetsch, 1988).

La proporción de ácido acético, propiónico y butírico se muestra en el Cuadro 10. La concentración de ácido acético fue similar tanto en periodos como en el promedio general, pero la proporción de ácido propiónico cambió ($P \leq 0.05$) al inicio de la fase experimental, la cual fue mayor para el tratamiento que incluyó 20 % de PET en la dieta, en comparación con el tratamiento testigo y similar al T2 (10 % PET).

En dietas altas en grano hay mayor producción de molar de ácido propiónico, que está relacionado con la actividad de las bacterias que fermentan glucosa para su crecimiento, como *S. bovis* y *S. ruminantium* que transforman succinato a propionato. (Russel y Jeraci, 1984). En rumiantes para producción de carne, una menor

proporción de ácido acético y mayor de propiónico, está relacionada generalmente con una mayor eficiencia en la utilización de la energía, y por tanto, mejor respuesta en GDP (Weimer, 1998; Goodrich *et al.*, 1984). El acetato y propionato son transportados al hígado, mientras que el butirato es convertido en la pared ruminal en β -hidroxibutirato, el cual es una de las principales fuentes de energía para la mayoría de los tejidos (Orskov, *et al.*, 1991; Owens y Goetsch, 1988). Con relación al butirato, su concentración fue mayor ($P < 0.05$) únicamente en el segundo periodo de evaluación en el tratamiento PET-10, en comparación con PET-0 y PET-20. Aunque hubo diferencias en la concentración de propionato y butirato en dos periodos, éstas, no afectaron la concentración promedio final de estos ácidos grasos volátiles.

Los resultados del presente estudio coinciden con los reportados por Pérez (2006) quién no encontró diferencias en la concentración de acetato ni de propionato al analizar la concentración promedio, cuando proporcionó 10 y 20 % (base seca) de PET en las dietas para borregos en engorda. No obstante, al analizar la concentración de butirato, ésta presentó diferencias ($P \leq 0.05$), siendo menor para PET-20 (1.58 mM), comparado con PET-0 (2.81 mM); pero similar al PET-10 (2.61 mM). Otros investigadores (González-Aranda *et al.*, 1972), obtuvieron concentraciones similares para acético (64 mM) en rumen de vacas alimentadas con una dieta que contenía 50 % concentrado, 30 % forraje y 20 % polietileno; un resultado similar lo reportó Boling *et al.* (1969), quienes no observaron diferencias para los tres principales AGV en ganado productor de carne alimentado con dietas que contenían 10 y 20 % de polietileno (acético:48-62; propiónico:21-30; butírico:10-

14%); y El-Sabban *et al.* (1972) al incluir 15 % de aserrín de encino en ganado de carne, quienes reportaron una proporción de acético, propiónico y butírico: 41:42:10.

La concentración de acético obtenido en el presente estudio, son parecidos al reportado en otros experimentos donde se han utilizado otros sustratos diferentes como fuente de fibra, por ejemplo, paja y cascarilla de arroz (20 % en ambos casos) y 80 % de concentrado (White *et al.*, 1969). White y Reynolds (1969), obtuvieron una concentración de 57 mM para ácido acético y de 23 a 38 mM para el ácido propiónico, en muestras de fluido ruminal de animales alimentados con dietas que contenían vainas de arroz (20 % de la MS de la dieta). Mientras que González-Aranda *et al.* (1972) y White y Reynolds (1969) reportan que no hubo efecto sobre la proporción molar de los AGV cuando proporcionaron tiras de polietileno en dietas para vacas lecheras. Guerra (2004), obtuvo 62 y 27 mM para acético y propiónico, cuando incluyó 30 % de aserrín en dietas para ovinos.

Por tanto, la inclusión de PET en la dieta de ovinos no afecta la proporción de ácidos grasos volátiles en el ambiente ruminal, ya que los valores obtenidos se encuentran dentro del intervalo reportado para animales alimentados con otras fuentes de fibra usadas en la formulación de dietas para rumiantes (Bergman, 1990).

Cuadro 10. Concentración (mM) de ácidos grasos volátiles en líquido ruminal de borregos alimentados con diferentes cantidades de PET en la dieta

Variable	Periodos ⁺	Tratamientos			
		PET-0	PET-10	PET-20	EEM
Acetato	Ci	48.40	47.84	45.19	3.94
	1	56.88	54.78	52.99	3.94
	2	52.88	57.71	51.02	3.94
	3	55.30	59.04	56.54	3.94
	4	54.60	51.63	53.68	3.94
	Promedio	53.61	54.20	51.89	2.31
Propionato	Ci	21.36 ^b	25.34 ^{ab}	32.33 ^a	3.58
	1	21.55	24.26	24.65	3.58
	2	23.20	22.02	21.96	3.58
	3	26.32	24.86	27.14	3.58
	4	23.19	22.17	25.61	3.58
	Promedio	23.12	23.73	26.34	1.97
Butirato	Ci	9.01	9.30	9.31	1.23
	1	9.67	9.31	9.83	1.23
	2	8.68 ^{ab}	10.37 ^a	7.88 ^b	1.23
	3	8.96	9.50	9.49	1.23
	4	9.75	9.51	10.07	1.23
	Promedio	9.21	9.60	9.32	0.83

^{a,b} = medias con literales diferentes en una hilera difieren estadísticamente ($P \leq 0.05$).

EEM = error estándar de la media. ⁺Periodos de 15 d.

Ci = concentración inicial al día 1 de iniciado el experimento. PET-0, PET-10 y PET-20; dietas con 0, 100 y 200 g de PET por kg de MS.

Concentración de nitrógeno amoniacal

No se ha establecido una concentración óptima de nitrógeno amoniacal en rumen para lograr un crecimiento y producción de proteína microbiana óptimos (Bergen y Yokoyama, 1977). Los valores de los requerimientos varían desde 5 mg de $\text{N-NH}_3 \text{ dL}^{-1}$ (Satter y Slyter, 1974) hasta 23 mg de $\text{N-NH}_3 \text{ dL}^{-1}$ (Mehrez *et al.*, 1977) o inclusive de 8.8 a 56.1 mg dL^{-1} (Rogers *et al.*, 1986) por lo que, los valores obtenidos en este estudio, de 19 a 33 mg dL^{-1} (Cuadro 11) para los tres tratamientos, se encuentran dentro de estos intervalos.

La limitación de nitrógeno degradable en rumen puede tener consecuencias adversas en el consumo, ganancia de peso y eficiencia alimenticia (Mehrez y Orskov, 1977), por lo que debe de incluirse en las raciones ingredientes nitrogenados de alta degradación ruminal. Las fuentes de N en rumen proceden de la degradación de la proteína de la dieta y del nitrógeno no proteínico (NNP) de la dieta o de la saliva del animal. Estas fuentes de N-NH_3 pueden ser utilizadas por los microorganismos para síntesis de proteína microbiana (Abdoun *et al.*, 2007). La concentración de nitrógeno amoniacal en fluido ruminal también indica el grado de solubilidad y degradación de compuestos nitrogenados como proteína, péptidos, aminoácidos, ácidos nucleicos y fuentes endógenas de N (urea) reciclada en epitelio ruminal y saliva (Abdoun *et al.*, 2007; Huntington y Archibeque, 1999; Forbes y France, 1993; Wallace, 1979).

El amoniaco es la principal fuente de nitrógeno que utilizan los microorganismos ruminales para su metabolismo y crecimiento, entre 60 a 90 % del consumo diario de nitrógeno (proteínas o NNP) por los rumiantes es convertido a amoniaco en el rumen y de 50 a 70 % de la proteína bacteriana puede ser derivada a

partir de este amoniaco (Mackie y White, 1990). La concentración de nitrógeno amoniacal (Cuadro 11) fue diferente ($P \leq 0.05$) para los cuatro periodos y en el promedio general. Este resultado era predecible, a pesar de que la cantidad de proteína total fue similar entre tratamientos (Cuadro 1), ya que, los tratamientos que tuvieron la mayor concentración amoniacal (PET-10 y PET-20), fue donde se incluyó una mayor cantidad de NNP en forma de urea (PET-0=0.95, PET-10=1.12 y PET-20=1.30 %).

Este comportamiento se debió a que la urea es rápidamente hidrolizada por los microorganismos ruminales produciendo amonio, obteniendo las máximas concentraciones a las 4 h postalimentación (Owens *et al.*, 1980; Huston *et al.*, 1974). Al evaluar esta misma variable con dietas que contenían la misma cantidad de PET (10 y 20 %) y urea (1 %) Pérez (2006), encontró diferencias significativas en el primer periodo experimental (0-15 d), donde el tratamiento que contenía 10 % de PET, tuvo la mayor concentración de amoniaco (22.20 mg dL^{-1} de N-NH_3) en comparación con los tratamientos que contenían 0 y 20 % de PET (13.44 y 13.92 mg dL^{-1}). Cuando se analizó el promedio de los cuatro periodos experimentales, no determinó diferencias ($P > 0.05$) entre tratamientos.

Cuando se utilizó aserrín de pino (30 %) como material inerte en dietas para ovinos la concentración de N amoniacal fue de 32.3 mg dL^{-1} (Guerra, 2004).

Cuadro 11. Concentración de nitrógeno amoniacal (mg dL⁻¹) en líquido ruminal de borregos alimentados con diferentes cantidades de PET en la dieta

Periodos ⁺	Tratamientos			EEM
	1 PET-0	2 PET-10	3 PET-20	
1	20.33 ^b	30.78 ^a	28.09 ^a	3.68
2	24.63 ^b	30.28 ^{ab}	34.95 ^a	3.68
3	23.01 ^b	38.18 ^a	39.51 ^a	3.68
4	20.07 ^b	34.54 ^a	37.80 ^a	3.68
Promedio	19.62 ^b	30.74 ^a	32.55 ^a	1.96

^{a,b} = medias con literales diferentes en una hilera difieren estadísticamente ($P \leq 0.05$). EEM = error estándar de la media. ⁺Periodos de 15 d. PET-0, PET-10 y PET-20; dietas con 0, 100 y 200 g de PET por kg de MS.

Concentración de bacterias ruminales totales

Sólo hubo diferencias ($P \leq 0.05$) en la concentración de bacterias totales para el primer periodo donde el tratamiento testigo tuvo la mayor concentración. Sin embargo, al analizar la información como promedio de toda la fase experimental, la concentración fue igual ($P > 0.05$) con una concentración de 3.02 (PET-0), 2.79 (PET-10) y 2.89×10^{10} (PET-20) bacterias por mL de fluido ruminal (Cuadro 12). Esta concentración se encuentra dentro del intervalo óptimo (10^{10} - 10^{12} bacterias mL⁻¹ de fluido ruminal) reportado por Orpin y Joblin (1988), Wallace (1994) y Jouany (1994).

Pérez (2006), tampoco encontró diferencias en la concentración de bacterias totales en el rumen de ovinos alimentados con diferentes cantidades de PET; este autor reporta una concentración de 1.42 (tratamiento testigo), 1.45 (10 % de PET en la dieta) y 1.54×10^{10} (20 % de PET en la dieta). Guerra (2004) también reporta una

concentración similar (5.2×10^{10}) al evaluar la inclusión de 30 % de aserrín de pino como fuente de fibra en dietas para ovinos. Por tanto, se estima que la inclusión de envases de PET molido hasta en un 20 % de la dieta, no tiene efecto negativo en la concentración de bacterias totales ruminales.

Cuadro 12. Concentración de bacterias totales (10^{10} mL^{-1}) en líquido ruminal de borregos alimentados con diferentes cantidades de PET en la dieta.

Periodos ⁺	Tratamientos			
	PET-0	PET-10	PET-20	EEM
1	4.19 ^a	2.97 ^b	2.59 ^b	0.56
2	2.39	2.79	2.49	0.56
3	2.96	2.70	3.27	0.56
4	2.35	2.91	3.01	0.56
Promedio	3.02	2.79	2.89	0.27

^{a,b} = medias con literales diferentes en una hilera difieren estadísticamente ($P \leq 0.05$).

EEM = error estándar de la media. ⁺Periodos de 15 d. PET-0, PET-10 y PET-20; dietas con 0, 100 y 200 g de PET por kg de MS.

Concentración de bacterias celulolíticas ruminales

La concentración de bacterias celulolíticas fue diferente ($P \leq 0.05$) únicamente en el primer periodo experimental, el tratamiento PET-10 fue el que presentó la mayor concentración (Cuadro 13). Es de remarcar, que en éste mismo tratamiento y periodo experimental, la concentración de bacterias totales fue similar entre PET-10 y PET-20 (Cuadro 12), lo que pudiera explicar (en parte), que la mejor ganancia de

peso obtenida por los animales que recibieron la dieta PET-10; fue consecuencia de una mayor concentración de bacterias celulolíticas. Sin embargo, ésta diferencia no se mantuvo durante todo el periodo experimental. Lo que indica que las bacterias celulolíticas se adaptaron después de los primeros días de iniciado el experimento a la dieta que contenía 20 % de PET (T3).

Al incluir carbohidratos de fácil fermentación en las dietas, se favorece el crecimiento de bacterias amilolíticas y disminuye el de bacterias celulolíticas por efecto de una disminución en el pH ruminal (Goad *et al.*, 1998). Sin embargo, el pH ruminal en este estudio tuvo un rango entre 6.25 a 6.35 (Cuadro 9), por lo que se estima que no hubo un efecto negativo del pH ruminal sobre la degradación microbiana de los carbohidratos estructurales, ya que la actividad microbiana comienza a disminuir drásticamente cuando el pH ruminal es menor a 6.2 (Hiltner y Dehority, 1983). La concentración promedio para los tres tratamientos fue de 10^8 mL^{-1} de fluido ruminal, la cual es mayor por lo reportado (10^4 - 10^6) por Yokoyama y Johnson (1988).

Un comportamiento similar se reporta por Pérez (2006), al no encontrar diferencias significativas para esta variable, tanto en periodos como en la totalidad del experimento, al incluir las mismas cantidades de PET a dietas para ovinos en engorda. De hecho, con la utilización de otros sustratos inertes en altas cantidades, como el aserrín de pino en un 30% a dietas de ovinos, Guerra (2004), no reportó efectos negativos sobre esta variable microbiológica.

Cuadro 13. Concentración de bacterias celulolíticas (10^7 mL⁻¹) en líquido ruminal de borregos alimentados con diferentes cantidades de PET en la dieta

Periodos ⁺	Tratamientos			
	PET-0	PET-10	PET-20	EEM
1	16.00 ^b	39.50 ^a	16.85 ^b	1.13
2	5.35	6.00	27.95	1.13
3	15.65	18.05	6.95	1.13
4	15.90	2.85	5.00	1.13
Promedio	10.95	13.62	11.46	0.48

No hubo diferencias significativas ($P>0.05$). EEM = error estándar de la media.

⁺Periodos de 15 d. PET-0, PET-10 y PET-20; dietas con 0, 100 y 200 g de PET por kg de MS.

Concentración de protozoarios ruminales totales

La concentración de protozoarios totales varió (Cuadro 14) de 1.80 para PET-20 a 2.77×10^5 mL⁻¹ de fluido ruminal para PET-0, estos valores se encuentran dentro del rango normal (10^4 a 10^6 mL⁻¹ de fluido ruminal) reportado en borregos y ganado alimentado con diferentes dietas (Hungate, 1966; Dehority, 2003)

La concentración de protozoarios totales no presentó diferencias ($P>0.05$; Cuadro 14) entre periodos para los tratamientos que contenían PET ni para el tratamiento testigo.

El promedio de todo el periodo experimental, la concentración fue similar ($P>0.05$) entre PET-0 (2.77×10^5) y PET-10 (2.27×10^5), mientras que la menor ($P\leq 0.05$) concentración, con respecto al tratamiento PET-0, se detectó en el

tratamiento PET-20 (1.80×10^5); no obstante fue estadísticamente igual que PET-10 (2.27×10^5).

Con raciones altas en carbohidratos solubles, que son rápidamente fermentables, se puede llegar a pH de 5.0 o menor. Los protozoarios ciliados ruminales son más sensibles a cambios en el pH ruminal que las bacterias y desaparecen cuando el pH tiene un valor mayor de 7.8 o menor a 5.0 (Dehority, 2003). En el presente experimento la dieta incluyó 54 % de grano y el pH obtenido estuvo en el intervalo de 6.25-6.35 (Cuadro 9) sin presentar diferencias entre tratamientos; por tanto el efecto en la disminución de esta variable no es atribuida al pH ruminal.

Cuando se incluye mayor cantidad de concentrado en las raciones, la concentración de protozoarios totales aumenta (Dennis *et al.*, 1983). No obstante, cuando la inclusión de concentrado en la dieta se incrementa a más de 70-80 % de la MS, el valor de pH cae por debajo de 6.0 y la concentración de protozoarios cae marcadamente.

En un experimento donde se evaluaron las mismas inclusiones de PET (10 y 20 %) en dietas para ovinos en engorda, se encontró el mismo comportamiento en el periodo tres (30-45 d) y cuatro (45-60 d), en el cual el T2 y T3 tuvieron las concentraciones menores de protozoarios ruminales; no obstante, esta diferencia no se observó al analizar la información por promedio de todo el experimento (Pérez, 2006), a diferencia de los resultados obtenidos en el presente experimento.

Cuadro 14. Concentración de protozoarios totales (10^5 mL^{-1}) en líquido ruminal de borregos alimentados con diferentes cantidades de PET en la dieta

Periodos ⁺	Tratamientos			
	PET-0	PET-10	PET-20	EEM
1	2.74	2.56	1.97	0.63
2	2.32	2.11	1.40	0.63
3	2.01	1.17	1.39	0.63
4	2.89	1.64	1.81	0.63
Promedio	2.77 ^a	2.27 ^{ab}	1.80 ^b	0.32

^{a,b} = medias con literales diferentes en una hilera difieren estadísticamente ($P \leq 0.05$).

EEM = error estándar de la media. ⁺Periodos de 15 d. PET-0, PET-10 y PET-20; dietas con 0, 100 y 200 g de PET por kg de MS.

Es posible que al incluir PET en T2 y T3 tenga un efecto negativo en la concentración de protozoarios, sin embargo, con las variables evaluadas no se puede asegurar que el efecto se debió a la inclusión de PET o a otros factores. Por tanto, se requiere de otros estudios que permitan determinar la posible causa en la disminución de los protozoarios ruminales.

PET recuperado en heces

Muchos factores afectan la eficiencia de la utilización del alimento. La tasa de pasaje afecta la utilización de los nutrientes al modificar el tiempo requerido para los procesos de absorción y digestión. De la misma forma el consumo y tamaño de partícula afectan la tasa de pasaje. Adicionalmente, la masticación, rumia y densidad también la afectan (Elhe y Stern, 1986). En el presente experimento, se puede

observar en el Cuadro 15, que la cantidad de PET recuperado como porcentaje de la materia seca excretada fue diferente ($P \leq 0.05$) en los tratamientos PET-10 y PET-20, tanto en los tres periodos experimentales, como en el promedio. En PET-20, hubo mayor cantidad de PET recuperado (53.23%) comparado con T2 (28.13%). Estos resultados se debieron a que la digestibilidad del PET es mínima o nula, por tanto, al haber una mayor cantidad de PET en la dieta (20 % en PET-20) y dada la naturaleza inerte de éste (Cuadro 3) fue recuperado en mayor cantidad.

Factores como el consumo, tamaño de partícula, gravedad específica, tasa de hidratación y concentración de sólidos en la ración, tienen efecto sobre la tasa de pasaje del alimento por el retículo-rumen (Hungate, 1966; Owens y Goetsch, 1988). El tiempo de pasaje en ovinos para diferentes ingredientes van de 0.8 a 2.2 días, con un valor promedio ligeramente mayor a un día.

En un estudio donde se evaluó la tasa de pasaje utilizando vaquillas alimentadas con esferas de polietileno de diferente tamaño y densidad, ésta última fue la variable que tuvo mayor efecto sobre la tasa de pasaje. Los tamaños de partícula utilizados fueron 0.32, 0.64 y 1.27 cm y las densidades: 0.91, 1.34 y 2.30 g mL⁻¹. El tiempo de retención (h) fue variable y no presentó ninguna tendencia: desde 22.8 h (0.64 cm); 29.6 h (1.27 cm); hasta 34.3 h (0.32 cm) y una tasa de pasaje de 0.052, 0.0356 y 0.0361, respectivamente. Los tiempos de retención (h) máximos fueron observados para las partículas de mayor tamaño (1.27 cm) y densidad (2.30 g mL⁻¹) con valores entre 65 y 96 h (Ehle y Stern, 1986).

Cuadro 15. Cantidad de PET recuperado (%) de excretas de borregos alimentados con diferentes cantidades de PET

Periodos ⁺	Tratamientos		EEM
	PET 10	PET 20	
1	27.79 ^b	51.35 ^a	1.53
2	28.47 ^b	54.27 ^a	1.53
3	28.15 ^b	54.06 ^a	1.53
Promedio	28.13 ^b	53.23 ^a	1.05

^{a,b} = medias con literales diferentes en una hilera difieren estadísticamente ($P \leq 0.05$). EEM = error estándar de la media. ⁺Periodos de 20 d. PET-10 y PET-20; dietas con 100 y 200 g de PET por kg de materia seca.

Al usar esferas sintéticas (polipropileno, lucite y teflón) de diferente tamaño (0.32, 0.64 y 1.27 cm) y densidad (0.91, 1.34 y 2.30 g mL⁻¹), Ehle y Stern (1986) midieron los efectos de estos dos factores sobre la tasa de pasaje. Ambas variables afectaron la tasa de pasaje, sin embargo la densidad tuvo más efecto que el tamaño de partícula. En general el tamaño de partícula y la gravedad específica funcional son las variables que más afectan la tasa de pasaje. A lo anterior hay que añadir la capacidad de hidratación y la composición química de éstas.

PET retenido

El tiempo de retención de las partículas en el rumen está determinado por su tamaño y densidad. Con referencia al tamaño, en el rumen encontramos dos pozas: la poza de partículas grandes, que no puede sobrepasar inmediatamente el rúmen, y

la poza de partículas pequeñas, que sobrepasan el rumen. Dependiendo de su tamaño será su tasa de pasaje a través del tubo digestivo (Kaske y Engelhardt, 1990).

En el Cuadro 16 se muestran las cantidades de PET retenido en los tratamientos que incluyeron este sustrato. No hubo diferencias ($P>0.05$) entre tratamientos para esta variable al analizarla por periodos ni en promedio. La tendencia fue un incremento en el PET retenido a medida que se aumenta su inclusión en las dietas, lo cual indica que con la inclusión de 20 % de PET, todavía no se alcanza el límite máximo para obtener una retención constante del sustrato. La tendencia respecto a los gramos de PET retenido fue proporcional a la cantidad de PET incluido en las dietas, ya que al variar en un 10 % la inclusión de PET en las dietas (PET-10 y PET-20), la cantidad de PET retenido también varió con una diferencia de 10 g (Cuadro 16); con un consumo promedio de MS, en ambos tratamientos, de alrededor de 1 kg. Otros estudios realizados con dietas que contenían 10 y 20 % con partículas de polietileno, demuestran que hay un efecto de llenado ruminal debido a la acumulación de polietileno en rumen, lo que disminuye la tasa de pasaje, con efectos más pronunciados en experimentos de larga duración (más de 40d). La acumulación no es estática ya que en experimentos de corta duración (menos de 40 d), se presenta una tendencia hacia una tasa de pasaje continua (Boling *et al.*, 1969).

Con relación a lo anterior, González-Aranda *et al.* (1972), dieron polietileno en trozos corrugados (10 x 7 x 5 mm) a razón 1.8 kg d^{-1} a vacas en lactación durante ocho semanas y observaron que hubo una disminución en la cantidad retenida de

este material, concluyendo que éste no se acumula en el rumen y que la cantidad retenida representó un 19 % de la cantidad total del alimento ofrecido.

Cuadro 16. Cantidad de PET retenido (g) en borregos alimentados con diferentes cantidades de PET

Periodos ⁺	Tratamientos		EEM
	PET 10	PET 20	
1	32.04	33.41	4.28
2	20.80	29.06	5.56
3	25.95	43.91	4.97
Promedio	26.26	35.46	3.09

No hubo diferencias significativas ($P>0.05$). EEM = error estándar de la media.

⁺Periodos de 20 d. PET-10 y PET-20, dietas con 100 y 200 g de PET por kg de MS.

Digestibilidad aparente de materia seca de PET

No se encontraron diferencias ($P\leq 0.05$) para esta variable al analizar la digestibilidad por periodos, ni al analizar el promedio para todo el periodo experimental (Cuadro 17).

Cuadro 17. Digestibilidad aparente del PET (%) de borregos alimentados con dietas que incluían diferentes cantidades de PET

Periodos ⁺	Tratamientos		EEM
	PET 10	PET 20	
1	19.83	12.07	2.87
2	15.39	12.35	4.64
3	20.87	17.63	3.54
Promedio	18.70	14.09	3.29

^{a,b} = medias con literales diferentes en una hilera difieren estadísticamente ($P \leq 0.05$). EEM = error estándar de la media. ⁺Periodos de 20 d. PET-10 y PET-20, dietas con 100 y 200 g de PET por kg de MS.

A medida que aumentó la inclusión de PET en las dietas disminuyó la digestibilidad aparente de este sustrato. Este resultado era esperado, ya que durante el análisis químico alcalino y ácido (FDN y FDA; Cuadro 1) que se realizó a los envases de PET, indicaron su alta resistencia a cualquier tipo de digestión (ácida o alcalina).

CONCLUSIONES

Con base en los resultados obtenidos en el presente experimento, en las condiciones descritas, se concluye lo siguiente.

El consumo de materia seca y la eficiencia alimenticia no presentaron diferencias significativas ($P>0.05$) en los borregos que consumieron 10 y 20 % de PET, comparados con los animales que recibieron una dieta convencional a base de maíz, pasta de soya, alfalfa y rastrojo de maíz. Sin embargo, la ganancia diaria de peso fue menor en los animales que consumieron una dieta con 20 % de PET. Por tanto, la sustitución total (20 %) de rastrojo de maíz por envases de PET molido, como fuente de fibra, no es recomendable. Mientras que la sustitución de un 50 % del rastrojo de maíz por envases de PET (tratamiento PET-10) resultó sin problemas en las variables productivas estimadas.

La concentración ruminal de AGV fue similar entre tratamientos ($P>0.05$), mientras que la concentración de nitrógeno amoniacal aumentó ($P\leq 0.05$) en los borregos que recibieron 10 y 20 % de PET, aunque esto se debió al incremento en la adición de urea en las dietas y no a la inclusión de PET. El pH ruminal no fue afectado por la adición de PET en las dietas. Tampoco se determinó un efecto negativo importante en la concentración de bacterias ruminales totales y celulolíticas. Mientras que la concentración de protozoarios totales disminuyó en los borregos alimentados con 20 % de PET en la dieta.

La digestibilidad aparente *in vivo* de las dietas experimentales disminuyó a medida que aumentó la inclusión de PET. Aunque, solamente se detectó una diferencia estadística entre la dieta testigo y la dieta que contenía 20 % de PET. Por tanto, una dieta con 10 % de PET, puede ser útil como fuente de fibra en dietas para borregos en crecimiento.

RECOMENDACIONES

Los resultados obtenidos en este estudio, demuestran que es posible utilizar envases de polietilentereftalato como fuente de fibra en la formulación de dietas para ovinos en crecimiento, siempre y cuando, no rebase un 10 % en base seca de los ingredientes de la dieta. Antes de recomendar el uso de envases de PET como fuente de fibra para rumiantes y como una alternativa para reciclar botellas a base de PET, se sugiere realizar otros experimentos que permitan medir posibles efectos negativos en la salud de los animales alimentados por un periodo experimental mayor al usado en este estudio. También se deben de realizar análisis que permitan estimar la calidad de la canal de animales alimentados con PET. Por último, y considerando que la mayoría de las partículas de PET consumido fueron excretadas por los ovinos, se deben realizar estudios de impacto ambiental que permitan estimar la repercusión en el suelo (de las zonas ganaderas) al utilizar envases de PET molido en la alimentación de ovinos.

LITERATURA CITADA

- Abdoun, K., F. Stumpff and H. Martens. 2007. Ammonia and urea transport across the rumen epithelium: a review. *Animal Health Research Reviews*. 7:43-59.
- Amass, W., A. Amass, and B. Tighe. 1998. A review of biodegradable polymers: uses, current developments in the synthesis and characterization of biodegradable polyesters, blends of biodegradable polymers and recent advances in biodegradation studies. *Polym. Int.* 47:89-144.
- Akin, D. E. 1980. Attack on lignified grass cell walls by a facultatively anaerobic bacterium. *App. Environ. Microbiol.* 40:809-820.
- Akin, D. E., and R. Benner. 1988. Degradation of polysaccharides and lignin by ruminal bacteria and fungi. *App. Environ. Microbiol.* 54:1117-1125.
- Altun, S., and Y. Ulcay. 2004. Improvement of waste recycling in PET fiber production. *J. Polym. Environ.* 12:231-237.
- AOAC. 1990. Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists. Vol. 1, 15th Ed. Assoc. Offic. Anal. Chem. Washington, D. C. pp: 69-88.
- APREPET. 2007. [www. aprepet.org.mx](http://www.aprepet.org.mx). Fecha de consulta, 8 de agosto de 2007.
- Bergen, W. G. And M. T. Yokoyama. 1977. Productive limits to rumen fermentation. *J. Anim. Sci.* 46:573-584.

- Bergman, E. N. 1990. Energy contributions of volatile fatty acids from the gastrointestinal tract in various species. *Physiological Reviews*. 70:567-590.
- Boling, J. A., T. Kowalczyk, and E. R. Hauser. 1969. Short-term voluntary feed intake and rumen volatile fatty acids of steers fed diets diluted with polyethylene particles. *J. Anim. Sci.* 28:84-89.
- Bryant, M. P., y I. M. Robinson. 1962. Some nutritional characteristics of predominant culturable ruminal bacteria. *J. Bacteriol.* 84:605-614.
- Chen, W., K. Ohmiya, S. Shimizu, and H. Kawakami. 1985. Degradation of dehydrovanillin by anaerobic bacteria from cow rumen fluid. *Appl. Environ. Microbiol.* 49:211-216.
- Chen, C. L., H. Macarie, I. Ramírez, A. Olmos, S. L. Ong, O. Monroy, and W. T. Liu. 2004. Microbial community structure in a thermophilic anaerobic hybrid degrading terphthalate. *Microbiology*. 150:3429-3440.
- Chesson, A., C. S. Stewart, and R. J. Wallace. 1982. Influence of plant phenolic acids on growth and cellulolytic activity of rumen bacteria. *Appl. Environ. Microbiol.* 44:597-603.
- Cobos, M. A. and M. T. Yokoyama. 1995. *Clostridium paraputrificum* var. *Ruminantium*: colonization and degradation of shrimp carapaces *in vitro* observed by scanning electron microscopy. *In: Rumen Ecology Research Planning*. Wallace, R. J., and A. Lahlou-Kassi (eds.). Proceedings of a workshop held at ILRI, Addis Ababa, Ethiopia. pp: 151-161.

- Daniels, L. B., J. R. Campbell, F. A. Martz, and H. B. Hedrick. 1970. An evaluation of newspaper as feed for ruminants. *J. Anim. Sci.* 30:593-596.
- Dehority, B. A. 1998. Microbial Interactions in the rumen. *Rev. Fac. Agron. (LUZ)*. 15:69-86.
- Dehority, B. A. and P. A. Tirabasso. 2001. Effect of feeding frequency on bacterial and fungal concentrations, pH, and other parameters in the rumen. *J. Anim. Sci.* 79:2908-2912.
- Dehority, B. A. 2003. Rumen microbiology. Nottingham University Press. Thrumpton, Nottingham, UK. 372 p.
- Dennis, S. M., M. J. Arambel, E. E. Bartley, and A. D. Dayton. 1983. Effect of energy concentrations and source of nitrogen on numbers and types of rumen protozoa. *J. Dairy Sci.* 66:1248-1254.
- Díaz, E., A. Ferrández, M. A. Prieto, and J. L. García. 2001. Biodegradation of aromatic compounds by *Escherichia coli*. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*. 65:523-569.
- Dinius, D. A., A. D. Peterson, T. A. Long, and B. R. Baumgardt. 1970. Intake and digestibility by sheep of rations containing various roughage substitutes. *J. Anim. Sci.* 30:309-312.
- Ehle, F. R. and M. D. Stern. 1986. Influence of particle size and density on particulate passage through alimentary tract of Holstein heifers. *J. Dairy Sci.* 69:564-568.
- El-Sabban, F. F., T. A. Long, and B. R. Baumgardt. 1972. Utilization of oak sawdust as a roughage substitute in beef cattle finishing rations. *J. Anim. Sci.* 32:749-755.

- Fahey, Jr. G. C., S. Y. Al-Haydari, F. C. Hinds, and D. E. Short. 1980. Phenolic compounds in roughages and their fate in the digestive system of sheep. *J. Anim. Sci.* 50:1165-1172.
- Fajardo, C., J. P. Guyot, H. Macarie, and O. Monroy. 1997. Inhibition of anaerobic digestion by terephthalic acid and its aromatics by products. *Wat. Sci. Tech.* 36:83-90.
- Fajardo, C., J. P. Guyot, H. macarie, y O. Monroy. 2006. Inhibición de la digestión anaerobia por el ácido tereftálico y sus subproductos aromáticos. *In: IV seminario-taller latinoamericano sobre tratamiento anaerobio de aguas residuales.* Rojas, Ch. O., y D. L. Acevedo. (eds.). Red colombiana de biotecnología ambiental. Universidad Industrial de Santander. Bucaramanga, Colombia. pp:115-124.
- Feldman, D. 2001. Polymer barrier films. *J. Polym. Environ.* 9:49-55.
- Forbes, J. M., and J. France. 1993. quantitative aspects of ruminant digestion and metabolism. CAB International. Oxon, UK. pp:123-130.
- Franzolin, R., and B. A. Dehority. 1996. Effect of prolonged high-concentrate feeding on ruminal protozoa concentrations. *J. Anim. Sci.* 74:2803-2809.
- Fujisawa, M., H. Hirai, and T. Nishida. 2001. Degradation of polyethylene and nylon-66 by the laccase-mediator system. *J. Polym. Environ.* 9:103-108.
- García, E. 1987. Modificaciones al sistema de clasificación climática de Koppen adaptado a las condiciones de la República Mexicana. 4^a ed. UNAM, México. 252 p.
- Geerken, C. M., D. Calzadilla, y R. González. 1987. Aplicación de la técnica de dos marcadores para medir el consumo de pastos y digestibilidad de la ración de

- vacas en pastoreo suplementadas con concentrado. *Pastos y Forrajes*. 10:266-273.
- Gill, M., and J. D. Oldham. 1993. Growth. *In: quantitative aspects of ruminant digestion and metabolism*. Forbes. J. M., and J. France (eds.). CAB International. Oxon, UK. pp:383-403.
- Goad, D. W., D. L. Goad and T. G. Nagaraja. 1998. Ruminal microbial and fermentative changes associated with experimentally induced subacute acidosis in steers. *J. Anim. Sci.* 76:234-241.
- Gonzalez-Aranda, A., L. J. Bush, J. L. Cunningham, and B. J. Steevens. 1972. Polyethylene as roughage substitute in rations for dairy cattle. *J. Anim. Sci.* 32:1239-1244.
- Goodrich, R. D., J. E. Garrett, D. R. Gast, D. A. Larson, and J. C. Meiske. 1984. Influence of monensin on the performance of cattle. *J. Anim. Sci.* 58:1484-1498.
- Goto, M. 2009. Chemical recycling of plastics using sub-and supercritical fluids. *The Journal of Supercritical Fluids*. 47:500-5007.
- Gross, R. A., and B. Kalra. 2002. Biodegradable polymers for the environment. *Science*. 297:803-807.
- Guerra, M. C. E. 2004. Uso de aserrín de pino (*pinus patula*) en la engorda de ovinos y aislamiento de un cultivo bacteriano. Tesis Doctorado. Recursos Genéticos y Productividad. Colegio de Postgraduados. Montecillo, México. 106 p.

- Hans-Joachim, G. J., G. C. Fahey Jr., and N. R. Merchen. 1983. Effects of ruminant digestion and metabolism on phenolic monomers of forages. *Br. J. Nutr.* 50:637-651.
- Hara, H., L. D. Eltis, J. E. Davies, and W. W. Mohn. 2007. Transcriptomic analysis reveals a bifurcated terephthalate degradation pathway in *Rhodococcus* sp. strain RHA1. *J. Bacteriol.* 189:1641-1647.
- Harrigan, W. F., y M. E. McCance. 1979. Métodos de laboratorio en microbiología de alimentos y productos lácteos. Ed. Academia, León, España. pp:361-366.
- Hassani, A. 2005. Use of plastic waste (poly-ethylene terephthalate) in asphalt concrete mixture as aggregate replacement. *Waste Management and Research.* 23:322-327.
- Hiltner, P., and B. A. Dehority. 1983. Effect of soluble carbohydrates on digestion of cellulose by pure cultures of rumen bacteria. *Appl. Environ. Microbiol.* 46:642-648.
- Hungate, R. E. 1966. The rumen and its microbes. Academic Press, New York, NY. USA.
- Huntington, G. B. and S. L. Archibeque. 1999. Practical aspects of urea and ammonia metabolism in ruminants. Department of Animal Science, North Carolina State University, Raleigh. *Proceedings of the American Society of Animal Science.* pp:1-11.
- Huston, J. E., M. Shelton, and L. H. Breuer. 1974. Effect of rate of release of urea on its utilization by sheep. *J. Anim. Sci.* 39:618-628.

- INRA. 1990. Alimentación de bovinos, ovinos y caprinos. Trad. Español por J. C. González. Ed. Mundi-Prensa. Madrid, España. pp:37-38.
- Jer-Horng, W., L. Wen-Tso, T. I-Cheng, and Ch. Sheng-Shung. 2001. Characterization of microbial consortia in a terephthalate-degrading anaerobic granular sludge system. *Microbiology*. 147:373-382.
- Jouany, J. P. 1994. Methods of manipulating the microbial metabolism in the rumen. *Ann. Zootech.* 43:49-62.
- Jung, H. G., and G. C. Fahey, Jr. 1983. Nutritional Implications of phenolic monomers and lignin: a review. *J. Anim. Sci.* 57:206-219.
- Jung, H. G., G. C. Fahey, Jr. and N. R. Merchen. 1983. Effects of ruminant digestion and metabolism on phenolic monomers of forages. *Br. J Nutr.* 50:637-651.
- Juteau, P., V. Côté, M. F. Duckett, R. Beaudet, F. Lépine, R. Villemur, and J. G. Bisailon. 2005. *Cryptanaerobacter phenolicus* gen. nov., sp. nov., an anaerobe that transforms phenol into benzoate via 4-hydroxybenzoate. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*. 55:245-250.
- Karegoudar, T. B., and B. G. Pujar. 1985. Degradation of terephthalic acid by a *Bacillus* species. *FEMS Microbiol. Lett.* 30:217-220.
- Karlsson, A., J. Ejlertsson, D. Nezirevic, and B. H. Svensson. 1999. Degradation of phenol under meso- and thermophilic, anaerobic conditions. *Anaerobe.* 5:25-35.

- Karlsson, A., J. Ejlertsson, and B. H. Svensson. 2000. CO₂-dependent fermentation of phenol to acetate, butyrate and benzoate by an anaerobic, pasteurised culture. *Arch. Microbiol.* 173:398-402.
- Karetnikova, E. A. 2006. Consumption of water-isoluble phenolic products of lignin pyrolysis by the strain *Penicillium tardum* H-2. *Applied Biochemistry and Microbiology.* 42:48-51.
- Kaske, M. and W. v. Engelhardt. 1990. The effect of size and density on mean retention time of particles in the gastrointestinal tract of sheep. *Br. J. Nutr.* 63:457-465.
- Kimura, T., and Y. Ito. 2001. Two bacterial mixed culture systems suitable for degrading terephthalate in wastewater. *J. Biosci. Bioeng.* 91:416-418.
- Kint, D. and S. Muñoz-Guerra. 1999. A review on the potential biodegradability of poly(ethylene terephthalate). *Polym. Int.* 48:346-352.
- Kleerebezem, R., J. Mortier., L. W. H. Pol, and G. Lettinga. 1997. Anaerobic pre-treatment of petrochemical effluents: terephthalic acid wastewater. *Wat. Sci. Tech.* 36:237-248.
- Kleerebezem, R., L. W. H. Pol, and G. Lettinga. 1999a. Anaerobic degradation of phthalate isomers by methanogenic consortia. *Appl. Environ. Microbiol.* 65:1152-1160.
- Kleerebezem, R., L. W. H. Pol, and G. Lettinga. 1999b. The role of benzoate in anaerobic degradation of terephthalate. *Appl. Environ. Microbiol.* 65:1161-1167.

- Kleerebezem, R., M. Ivalo, L. W. H. Pol, and G. Lettinga. 1999c. High-rate treatment of terephthalate in anaerobic hybrid reactors. *Biotechnol. Prog.* 15:347-357.
- Krzan, A., S. Hemjinda, S. Miertus, A. Corti, and E. Chiellini. 2006. Standardization and certification in the area of environmentally degradable plastics. *Polymer Degradation.* 91:2819-2833.
- Levén, L. 2006. Anaerobic digestion at mesophilic and thermophilic temperature with emphasis on degradation of phenols and structures of microbial communities. Doctoral thesis. Swedish University of Agricultural Sciences. Uppsala. 48 p.
- Littell, R. C., P. R. Henry, and C. B. Ammerman. 1998. Statistical analysis of repeated measures data using SAS procedures. *J. Anim. Sci.* 76: 1216-1231.
- Macarie, H. 2000. Overview of the application of anaerobic treatment to chemical and petrochemical wastewaters. *Wat. Sci. Tech.* 42:201-214.
- Mackie, R. I., and B. A. White. 1990. Recent advances in rumen microbial ecology and metabolism: potential impact on nutrient output. *In: Symposium, Rumen microbial ecology and nutrition.* *J. Dairy. Sci.* 73:2971-2995.
- Martin, A. K. 1982a. The origin of urinary aromatic compounds excreted by ruminants. 1. The metabolism of quinic, cyclohexanecarboxylic and non-phenolic aromatic acids to benzoic acid. *Br. J. Nutr.* 47:139-154.
- Martin, A. K. 1982b. The origin of urinary aromatic compounds excreted by ruminants. 2. The metabolism of phenolic cinnamic acids to benzoic acid. *Br. J. Nutr.* 47:155-164.

- Martin, A. K. 1982c. The origin of urinary aromatic compounds excreted by ruminants. 3. The metabolism of phenolic compounds to simple phenols. Br. J. Nutr. 48:497-507.
- Martin, A. K., J. A. Milne, and P. Moberly. 1983. The origin of urinary aromatic compounds excreted by ruminants. 4. The potential use of urine aromatic acid and phenol outputs as a measure of voluntary food intake. Br. J. Nutr. 49:87-99.
- McCullough, H. 1967. The determination of ammonia in whole blood by direct colorimetric method. Clin. Chem. 17:297-304.
- Mehrez, A. Z., E. R. Orskov, and I. McDonald. 1977. Rates of rumen fermentation in relation to ammonia concentration. Br. J. Nutr. 38:437-443.
- Mehrez, A. Z., and E. R. Orskov. 1977. A study of artificial bag technique for determining the digestibility of feed in the rumen. J. Agric. Sci. Camb. 88:645-650.
- Merchen, N. R. 1988. Digestión, absorción y excreción en los rumiantes. *In: El rumiante, fisiología digestiva y nutrición.* Church, D. C. (ed.). Acribia, Zaragoza, España. pp:191-223.
- Mertens, D. R. 1997. Creating a system for meeting the fiber requirements of dairy cows. J. Dairy Sci. 80:1463-1481.
- McCullough, H. 1967. The determination of ammonia in whole blood by direct colorimetric method. Clin. Chem. 17:297-304.

- Miller, C. 2004. Increased beverage consumption outside the home slows PET recycling. *Waste Age*. 35:10.
- NUTRION. 2002. Manual de operación. Versión 5 pro. Comercializadora de software, S. A. de C. V. Guadalajara, Jalisco. México. 106 p.
- NRC. 1985. Nutrient Requirements of sheep. 6th revised edition. National Academy Press. Washington, D. C. 104 p.
- Oltjen, R. R., R. J. Sirny, and A. D. Tillman. 1962. Purified diet studies with sheep. *J. Anim. Sci.* 21:277-283.
- Orion. 1996. Benchon pH/ISE Meters Models 250A, 420A, 520A, 525A, 710A, 920A. Instruction Manual USA. pp:5-8, 33-36.
- Orpin, C. G., and K. N. Joblin. 1988. The rumen anaerobic fungi. *In: The rumen microbial ecosystem*. Hobson, P. N. Elsevier Applied Science. London. pp: 129-150.
- Orskov, E. R., and M. Ryle. 1990. Energy nutrition in ruminants. Elsevier Applied Science. England. 149 p.
- Orskov, E. R., N. A. MacLeod, and Y. Nakashima. 1991. Effect of different volatile fatty acids mixtures on energy metabolism in cattle. *J. Agric. Sci. Camb.* 69:3389-3397.
- Owens, F. N., and A. L. Goetsch. 1988. Fermentación ruminal. *In: El rumiante. fisiología digestiva y nutrición*. Church, D. C. (ed). Acribia, S. A. Zaragoza, España. pp: 159-189.

- Owens, F. N., K. S. Lusby, K. Mizwicki, and O. Forero. 1980. Slow ammonia release from urea: rumen and metabolism studies. *J. Anim. Sci.* 50:527-531.
- Owens, F. N., and D. Secrist. 1994. Grain sources and processing for feedlot cattle. *In: Producción de carne bovina en corral. Instituto de Recursos Genéticos y Productividad. Colegio de Postgraduados. pp:78-88.*
- Owens, F. N., D. S., Secrist, W. J. Hill, and D. R. Gill. 1998. Acidosis in cattle: a review. *J. Anim. Sci.* 76:275-286.
- Patrauchan, M. A., C. Florizone, M. Dosanjh, W. W. Mohn, J. Davies, and L. D. Eltis. 2005. Catabolism of benzoate and phthalate in *Rhodococcus* sp. strain RHA1: redundancies and convergence. *J. Bacteriol.* 187:4050-4063.
- Peláez F. 2001. Los plásticos / www.ingenieriaambiental.com. Consultado el 5 de octubre de 2007.
- Pérez, S. M. 2006. Comportamiento productivo y microbiológico de borregos alimentados con polietilentereftalato como fuente de fibra. Tesis de Doctorado. Programa en Ganadería, Colegio de Postgraduados. Montecillo, Edo. de México. 81 p.
- Perry, T. W., H. F. Troutt, R. C. Peterson, and W. M. Beeson. 1968. Oyster shell a roughage replacer in fattening beef cattle rations. *J. Anim. Sci.* 27:185-189.
- Pisano, C. A., U. Cardamone, y P. D. Conde. 2000. Reciclado del PET. Centro Tecnológico de Plásticos y Elastómeros. Madrid, España 12 p.
- Plata, P. F. X. 1992. Efecto de un probiótico (*Saccharomyces cerevisiae*) en la fermentación ruminal, digestibilidad *in situ* y el consumo en bovinos

- alimentados con tres niveles de paja de avena. Tesis Meastría. Programa en Ganadería, Colegio de Postgraduados, Montecillo, Edo. de México. 92 p.
- Providenti, M. A., J. Mampel, S. MacSween, A. M. Cook, and R. C. Wyndham. 2001. *Comamonas testosteroni* BR6020 possesses a single genetic locus for extradiol cleavage of protocatechuate. *Microbiology*. 147:2157-2167.
- Qiu, Y. L., Y. Sekiguchi, H. Imachi, Y. Kamagata, I. Ch. Tseng, S. S. Cheng, A. Ohashi, and H. Harada. 2004. Identification and isolation of anaerobic, syntrophic phthalate isomer-degrading microbes from methanogenic sludges treating wastewater from terephthalate manufacturing. *Appl. Environ. Microbiol.* 70:1617-1626.
- Rogers, J. A., H. R. Conrad, B. A. Dehority, and J. A. Grubb. 1986. Microbial numbers, rumen fermentation and nitrogen utilization of steers fed wet and dried brewers' grains. *J. Dairy Sci.* 69:745-753.
- Rolf, J. M., L. Kleeberg, and D. D. Wolf. 2001. Biodegradation of polyesters containing aromatic constituents. *J. Biotechnol.* 86:87-95.
- Russell, J. B., and J. L. Jeraci. 1984. Effect of carbon monoxide on fermentation of fiber, starch, and amino acids by mixed rumen microorganisms *in vitro*. *Appl. Environ. Microbiol.* 48:211-217.
- SAS. Institute Inc. 1999. SAS User's Guide Statistics. Version 8.0. Cary North Carolina, USA. 956 p.
- Sasoh, M., E. Masai, S. Ishibashi, H. Hara, N. Kamimura, K. Miyauchi, and M. Fukuda. 2006. Characterization of the terephthalate degradation genes of *Comamonas* sp. strain E6. *Appl. Environ. Microbiol.* 72:1825-1832.

- Satter, L. D., and L. L. Slyter. 1974. Effect of ammonia concentration on rumen microbial protein *in vitro*. Br. J. Nutr. 32:199-208.
- Schink, B. 1997. Energetics of syntrophic cooperation in methanogenic degradation. Microbiology and Molecular Biology Reviews. 61:262-280.
- Schläfli, H. R., M. A. Weiss, T. Leisinger, and A. M. Cook. 1994. Terephthalate 1,2-dioxygenase system from *Comamonas testosteroni* T-2: purification and some properties of the oxygenase component. J. Bacteriol. 176:6644-6652.
- Sheng-Shung, Ch., H. Chiou-Ho, and W. Jer-Horng. 1997. Pilot study of UASB process treating PTA manufacturing wastewater. Wat. Sci. Tech. 36:73-82.
- Shelton, D. R., and J. M. Tiedje. 1984. Isolation and partial characterization of bacteria in anaerobic consortium that mineralizes 3-chlorobenzoic acid. Appl. Environ. Microbiol. 48:840-848.
- Shigematsu, T., K. Yumihara, Y. Ueda, M. Numaguchi, S. Morimura, and K. Kida. 2003. *Delftia tsuruhatensis* sp. Nov., a terephthalate-assimilating bacterium isolated from activated sludge. Int. J. Syst. Evol. Microbiol. 53:1479-1483.
- Shimao, M. 2001. Biodegradation of plastics. Curr. Opin Biotech. 12:242-247.
- SIGMA. 1990. Commonly Used Tissue Culture Terms. Technical Information. Catalogue Sigma Cell Culture Reagents. pp:180-190.
- Slyter, A. L., and L. D. Kamstra. 1974. Utilization of pine sawdust as a roughage substitute in beef finishing rations. J. Anim. Sci. 38:693-696.
- Steel, R. G. y J. H. Torrie. 1988. Bioestadística. Principios y procedimientos. Segunda edición. McGraw Hill, México. 622 p.

- Stein, R. S. 1992. Polymer recycling. Opportunities and limitations. Proc. Natl. Acad. Sci. 89:835-838.
- Stewart, C. S., and M. P. Bryant. 1988. The rumen bacteria. *In*: The rumen microbial ecosystem. Hobson, P. N. (ed.). Elsevier Applied Science, London. pp:21-75.
- Sudesh, K., H. Abe, and Y. Doia. 2000. Synthesis, structure and properties of polyhydroxyalkanoates: Biological Polyesters. Progr. Polym. Sci. 25:1503.
- Sugimori, D., T. Dake, and S. Nakamura. 2000. Microbial degradation of disodium terephthalate by alkaliphilic *Dietzia* sp. Strain GS-1. Biosc. Biotechnol. Biochem. 64:2709-2711.
- Van Soest, P. J., J. B. Robertson, and B. A. Lewis. 1991. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. Symposium: carbohydrate methodology, metabolism, and nutritional implications in dairy cattle. J. Dairy Sci. 74:3583-3597.
- Volke, S. T., T. E. Favela, G. A. Manzur, G. M. Limón, and Q. G. Trejo. 1999. Microbial degradation of thermo-oxidized low-density polyethylene. J. Appl. Polymer Sci. 73:1435-1440.
- Volke, S. T., C. G. Saucedo, R. M. Gutiérrez, A. Manzur, and T. E. Favela. 2002. Thermally treated low density polyethylene biodegradation by *Penicillium pinophilum* and *Aspergillus niger*. J. Appl. Polymer Sci. 83:305-314.
- Wallace, R. J. 1979. Effect of ammonia concentration on the composition, hydrolytic activity and nitrogen metabolism of the microbial flora of the rumen. J. Appl. Bacteriol. 47:443.

- Wallace, R. J. 1994. Ruminant microbiology, biotechnology, and ruminant nutrition: progress and problems. *J. Anim. Sci.* 72:2992-3003.
- Wang, Z., and L. A. Goonewardene. 2004. The use of MIXED models in the analysis of animal experiments with repeated measures data. *Can. J. Anim. Sci.* 84: 1-11.
- Warikoo, V., M. J. McInerney, J. A. Robinson, and J. M. Suflita. 1996. Interspecies acetate transfer influences the extent of anaerobic benzoate degradation by syntrophic consortia. *Appl. Environ. Microbiol.* 62:26-32.
- Weimer, P. J. 1998. Manipulating ruminal fermentation: a microbial ecological perspective. *J. Anim. Sci.* 76:3114-3122.
- White, T. W., and W. L. Reynolds. 1969. Various sources and levels of roughage in steers rations. *J. Anim. Sci.* 28:705-710.
- White, T. W., W. L. Reynolds. And R. H. Klett. 1969. Roughage sources and levels in steer rations. *J. Anim. Sci.* 29:1001-1005.
- Witt, U., T. Einig, M. Yamamoto, I. Kleeberg, W. -D. Deckwer, and R. J-. Müller. 2001. Biodegradation of aliphatic-aromatic copolyesters: evaluation of the final biodegradability and ecotoxicological impact of degradation intermediates. *Chemosphere.* 44:289-299.
- Wolin, M. J., and T. L. Miller. 1988. Microbe-microbe interactions. *In: The rumen microbial ecosystem.* Hobson, P. N. (ed). Elsevier Applied Science. London. pp:343-359.

- Wu, J., X. Ya-Zhong, y Y. Han-Qing. 2005. Degradation of lignin in pulp mill wastewaters by white-rot fungi on biofilm. *Biores. Technol.* 96:1357-1363.
- Yang, W. Z., y K. A. Beauchemin. 2006. Increasing the physically Effective fiber contenido f dairy cow diets may lower efficiency of feed use. *J. Dairy Science.* 89:2618-2633.
- Yokoyama, M. T., y K. A. Johnson. 1988. Microbiología del rumen e intestino delgado. *In: El rumiante, fisiología digestiva y nutrición.* Church, D. C. (ed.). Acribia, Zaragoza, España. pp:137-157.
- Young, C. K., G. J. Zylstra, and E. Kim. 2007. Catabolite repression of the phthalate degradation pathway in *Rhodococcus sp.* strain DK17. *Appl. Environ. Microbiol.* 73:1370-1374.
- Zeicus, J. G. 1980. Fate of lignin and related aromatic substrates in anaerobic enviroments. *In: Lignin Biodegradation: Microbiology, chemistry, and potential applications.* Vol I. Kirk, T. K., T. Higuchi, and H. Chang (eds.). CRC Press Inc., Boca Ratón, Florida. pp:101-109.