

ENVASES DE POLIETILENTEREFTALATO MOLIDOS Y SU FUNCIÓN COMO SUSTITUTO DE FIBRA EN LA DIETA DE BORREGOS

GROUND POLYETHYLENE TEREPHTHALATE BOTTLES AND ITS FUNCTION AS FIBER SUSTITUTE IN DIETS FOR LAMBS

Mario A. Cobos-Peralta¹, Miguel A. Mata-Espinosa², Marcos Pérez-Sato³, David Hernández-Sánchez¹, Ronald Ferrera-Cerrato⁴

¹Ganadería y ⁴Edafología. Campus Montecillo. Colegio de Postgraduados. 56230. Montecillo, Texcoco, Estado de México. (cobos@colpos.mx). ²Unidad Regional Universitaria Zonas Áridas. Universidad Autónoma Chapingo. Carretera Gómez Palacio-Ciudad Juárez, Bermejillo, Durango, México. ³Unidad Académica de la Escuela de Ingeniería Agrohidráulica, Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, Puebla, México.

RESUMEN

Los métodos usados para reciclar envases de polietilentereftalato (PET) son insuficientes y han causado un problema serio de contaminación ambiental en varios países. Una alternativa para reciclar estos envases es incluirlos como fuente de fibra o material inerte en dietas para rumiantes. Con el objetivo de probar esta alternativa se alimentaron 30 borregos (peso vivo promedio de 23.4 kg; 10 por tratamiento) con dietas sin (T1=PET-0) y con 100 (T2=PET-100) y 200 g (T3=PET-200) de envases de PET triturados kg⁻¹ MS en sustitución de rastrojo de maíz. Las dietas se formularon para cubrir los requerimientos nutritivos de borregos en crecimiento con una ganancia promedio de peso de 200 g d⁻¹. Las variables consumo de alimento, ganancia de peso y conversión alimenticia fueron similares (p>0.05) durante el experimento (60 d). La concentración de acetato y propionato ruminal fue similar (p>0.05) entre tratamientos, mientras que la concentración de butirato fue superior (p≤0.05) en el fluido ruminal de los borregos del tratamiento PET-200. El pH ruminal varió de 6.54 a 7.2 sin diferencias (p>0.05) entre tratamientos. La concentración de bacterias totales tuvo un intervalo de 2.84×10¹⁰ y 2.97×10¹⁰ mL⁻¹ y la de bacterias celulolíticas de 1.32×10⁸ a 1.66×10⁸ mL⁻¹ de fluido ruminal, sin diferencias (p>0.05) entre tratamientos. La concentración de protozoarios disminuyó (p≤0.05) después de 45 d en los borregos del tratamiento PET-200 con respecto al tratamiento PET-0 (1.64 vs 2.49×10⁵ mL⁻¹), aunque estos valores son normales en rumiantes (10⁴ a 10⁶ protozoarios mL⁻¹ de fluido ruminal). Se concluye que los envases de PET molidos pueden sustituir al rastrojo de maíz como fuente de fibra, sin efecto negativo en eficiencia productiva, fermentación ruminal o concentración de bacterias y protozoarios ruminales.

ABSTRACT

The methods used for recycling polyethylene terephthalate (PET) bottles are insufficient and have caused a serious problem of environmental contamination in several countries. An alternative for recycling these bottles is to include them as a source of fiber or inert material in diets for ruminants. With the objective of testing this alternative, 30 lambs (average live weight 23.4 kg; 10 per treatment) were fed diets without (T1 = PET-0) and with 100 (T2=PET-100) and 200 g (T3=PET-200) of ground PET bottles kg⁻¹ DM in substitution of corn stalks. The diets were formulated to cover the nutritional requirements of growing lambs with an average weight gain of 200 g d⁻¹. The variables feed intake, weight gain and feed conversion were similar (p>0.05) during the experiment (60 d). The concentration of acetate and ruminal propionate was similar (p>0.05) among treatments, whereas the concentration of butyrate was higher (p≤0.05) in the ruminal fluid of the lambs of the treatment PET-200. The ruminal pH varied from 6.54 to 7.2 without differences (p>0.05) among treatments. The concentration of total bacteria had an interval of 2.84×10¹⁰ and 2.97×10¹⁰ mL⁻¹ and that of cellulolytic bacteria of 1.32×10⁸ to 1.66 × 10⁸ mL⁻¹ of ruminal fluid, without differences (p>0.05) among treatments. The concentration of protozoa decreased (p≤0.05) after 45 d in the lambs of treatment PET-200 with respect to treatment PET-0 (1.64 vs 2.49 × 10⁵ mL⁻¹), although these values are normal in ruminants (10⁴ to 10⁶ protozoa mL⁻¹ of ruminal fluid). It is concluded that ground PET bottles can substitute corn stalks as a fiber source, without any negative effect on productive efficiency, ruminal fermentation or concentration of ruminal bacteria and protozoa.

* Autor responsable ♦ Author for correspondence.

Recibido: Noviembre, 2009. Aprobado: Diciembre, 2010.

Publicado como ARTÍCULOS en *Agrociencia* 45: 33-41. 2011.

Key words: ruminal bacteria, plastic bottles, PET recycling, PET.

Palabras clave: bacterias ruminales, envases de plástico, reciclaje de PET, PET.

INTRODUCCIÓN

El polietilentereftalato (PET) es un plástico usado para envasar agua y bebidas carbonatadas y la aceptación de este plástico se debe a que las botellas de PET son reciclables y no dañan la salud humana. Sin embargo, el reciclaje es mínimo; en el 2005 se produjeron en el mundo 9 millones de t de envases de PET y sólo se recicló 28 %, y en el 2010 se calculó una producción de 12.5 millones de t y un reciclaje de 32 % (Bertelli, 2009). En países latinoamericanos el reciclado es aún menor; en México dos de cada 10 botellas de PET son recicladas de 9 billones de botellas vendidas anualmente (Operadora de Fondos Lloyd, S.A., 2005). Entonces, los problemas de contaminación de suelos y agua son evidentes.

Las botellas usadas de PET son transformadas química o físicamente en sus monómeros o en fibras y pueden ser recicladas en la producción de envases para productos de limpieza, aislante térmico de bolsas de dormir, alfombras, mangos de herramientas y autopartes (Gurudatt *et al.*, 2005). Sin embargo, la oferta excede la demanda y los métodos de reciclaje resultan insuficientes. Una alternativa para reciclar cantidades elevadas de envases de PET es mediante su uso como sustituto de fibra o material inerte para rumiantes. El nivel adecuado de fibra en la dieta de rumiantes es importante para estimular la masticación y la rumia; así, el pH ruminal se mantiene cerca de la neutralidad y los animales no desarrollan acidosis ruminal subclínica (Zebeli *et al.*, 2008).

En la literatura revisada no se encontró información sobre el uso de envases de PET como fuente de fibra. El PET es biológicamente inerte si es ingerido y no tiene actividad mutagénica o carcinogénica (de Fusca *et al.*, 1990; Monarca *et al.*, 1994). El uso de envases de PET para la desinfección solar de agua (6 h a radiación solar y temperaturas elevadas) no presenta riesgos a la salud humana pues el material no libera compuestos químicos (Schmid *et al.*, 2008).

En ambientes anaerobios se han aislado bacterias que pueden transformar ácido tereftálico, precursor del PET, en metano y bióxido de carbono (Qiu *et al.*, 2003; Jiayi and Ji-Dong, 2006;). Sin embargo, se requiere 3 a 12 meses para esta biotransformación (Kleerebezem *et al.*, 1999, Wu *et al.*, 2001), por lo

INTRODUCTION

Polyethylene terephthalate (PET) is a plastic used for bottling water and carbonated beverages, and the acceptance of this plastic is due to the fact that PET bottles are recyclable and are not harmful to human health. However, recycling is minimal; in 2005 9 million t of PET bottles were produced in the world and only 28 % were recycled, and in 2010 a production of 12.5 million t was calculated, with a recycling of 32 % (Bertelli, 2009). In Latin American countries, recycling is even lower; in Mexico two out of every 10 PET bottles are recycled of 9 billion bottles sold annually (Operadora de Fondos Lloyd, S.A., 2005). Thus, the problems of soil and water contamination are evident.

Used PET bottles are chemically or physically transformed in their monomers or in fibers and can be recycled in the production of bottles for cleaning products, thermal insulation of sleeping bags, rugs, tool handles and auto parts (Gurudatt *et al.*, 2005). However, the supply exceeds the demand and the recycling methods are insufficient. An alternative for recycling large quantities of PET bottles is through its use as substitute of fiber or inert material for ruminants. The adequate level of fiber in the diet of ruminants is important for stimulating mastication and rumination; thus, the ruminal pH is maintained close to neutral and the animals do not develop subclinical rumen acidosis (Zebeli *et al.*, 2008).

In the revised literature no information was found on the use of PET bottles as fiber source. PET is biologically inert if ingested and has no mutagenic or carcinogenic activity (de Fusca *et al.*, 1990; Monarca *et al.*, 1994). The use of PET bottles for the solar disinfection of water (6 h at solar radiation and high temperatures) does not represent any risk to human health, given that the material does not release chemical compounds (Schmid *et al.*, 2008).

In anaerobic environments, bacteria have been isolated with the capacity of transforming terephthalic acid, PET precursor, into methane and carbon dioxide (Qiu *et al.*, 2003; Jiayi and Ji-Dong, 2006). However, 3 to 12 months are required for this biotransformation (Kleerebezem *et al.*, 1999; Wu *et al.*, 2001), thus a minimal degradation of PET in rumen is expected.

The objective of the present study was to evaluate the effect of 100 and 200 g of ground PET bottles

cual se espera una mínima degradación de PET en el rumen.

El objetivo del presente estudio fue evaluar el efecto de 100 y 200 g de envases de PET triturados kg^{-1} MS en la dieta de borregos sobre la eficiencia productiva, fermentación ruminal, y concentración de bacterias y protozoarios del rumen.

MATERIALES Y MÉTODOS

Fuente de PET

Botellas de PET transparentes y de color verde, fueron obtenidas del centro de reciclaje de plásticos del Departamento de Agroecología de la Universidad Autónoma de Chapingo. Las botellas lavadas y sin etiquetas fueron trituradas en un molino para plásticos con malla de 5 mm.

Animales

Treinta borregos machos (Suffolk \times Corriedale; peso promedio de 24.87 ± 1.7 kg) fueron distribuidos aleatoriamente en tres grupos, alojados individualmente en corrales (1.0 \times 2.4 m), durante 70 d: periodo de adaptación 10 d, y experimental 60 d. Durante la adaptación los borregos recibieron antiparasitarios y un suplemento con vitamina ADE.

Tratamientos y dietas

Los tratamientos fueron tres dietas: sin PET (T1=PET-0) o con 100 (T2=PET-100) y 200 g (T3=PET-200) de botellas trituradas kg^{-1} MS. Las dietas se formularon con el programa Nutrition (2002) de acuerdo con los requerimientos nutritivos para borregos en crecimiento con ganancia diaria de peso de 200 g (NRC, 1985) (Cuadro 1). Las dietas y el PET triturado fueron analizados para determinar MS, PC, cenizas (AOAC, 1990; procedimientos: 934.01, 976.05 y 927.02), aFDN (técnica de FDN con amilasa estable al calor) y FDA (Van Soest *et al.*, 1991). El PET no contiene celulosa, hemicelulosa, lignina ni cenizas y resiste la digestión ácida y alcalina de la técnica descrita por Van Soest (1991), por lo que todo se recupera como FDA.

Ensayo de comportamiento productivo

Los borregos fueron alimentados *ad libitum* y el alimento se proporcionó a las 0800 y 1600 h; para calcular el consumo de alimento se pesó diariamente el alimento ofrecido y el rechazado. Los borregos se pesaron después de un ayuno de 8 h cada 15 d para calcular la ganancia diaria de peso. Los datos de consumo de

kg^{-1} DM in the diet of lambs on productive efficiency, rumen fermentation, and concentration of ruminal bacteria and protozoa.

MATERIALS AND METHODS

Source of PET

Transparent and green colored PET bottles were obtained from the plastic recycling center of the Departamento de Agroecología of the Universidad Autónoma Chapingo. The washed bottles free of labels were ground in a mill for plastics with 5 mm mesh.

Cuadro 1. Ingredientes y composición química (g 100 g⁻¹ MS) de las dietas experimentales.

Table 1. Ingredients and chemical composition (g 100 g⁻¹ DM) of the experimental diets.

Ingredientes	Tratamientos [†]		
	PET-0	PET-10	PET-20
Rastrojo de maíz	20.00	10.00	0.0
Envases PET triturados	0.0	9.83	19.65
Maíz amarillo	41.00	41.00	41.00
Pasta de soya	13.05	13.05	13.05
Alfalfa fresca	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
Composición química (g 100 g ⁻¹ MS)			
Materia seca	93.59	95.96	96.49
Materia orgánica	92.61	93.64	93.90
Proteína cruda	16.70	16.70	16.70
EM, Mcal kg ⁻¹	2.51	2.51	2.51
FDN	22.44	23.95	25.39
FDA	10.27	15.51	21.15
Cenizas	7.38	6.35	6.10

[†]PET: envases de refresco de polietilentereftalato. PET-0, PET-10 y PET-20: dietas con 100 y 200 g PET kg^{-1} MS \diamond carbonated beverage bottles of polyethylene terephthalate. PET-0, PET-10 and PET-20: diets with 100 and 200 g PET kg^{-1} DM.

[‡]Ovinomin[®] contiene 5.0 % P, 13.0 % Ca, 6.0 % Mg, 0.18 % S, 16.0 % Na, 24.0 % Cl, 3,000 ppm Zn, 250 ppm zinc-metionina, 1100 ppm Mn, 125 ppm Co, 40 ppm I, 5 ppm Se \diamond Ovinomin[®] contains 5.0 % P, 13.0 % Ca, 6.0 % Mg, 0.18 % S, 16.0 % Na, 24 % Cl, 3,000 ppm Zn, 250 ppm zinc-methionine, 1100 ppm Mn, 125 ppm Co, 40 ppm I, 5 ppm Se.

EM calculada a partir de los ingredientes (NRC, 1985) \diamond ME calculated from the ingredients (NRC, 1985).

alimento y ganancia de peso se usaron para calcular la conversión alimenticia (consumo de alimento/ganancia de peso) en periodos de 15 d.

Recolección y análisis del fluido ruminal

Las muestras (200 mL) de fluido ruminal se obtuvieron vía esofágica 3 h después de la alimentación matutina en los días 15, 30, 45 y 60. Las muestras fueron filtradas a través de tres capas de tela de manta y en 50 mL de ellas se midió el pH, la concentración (por mL) de bacterias totales, celulolíticas y protozoarios. Para el análisis de AGV (acetato, propionato y butirato) y N-NH₃, se centrifugaron 10 mL de líquido ruminal a 12 000 × g por 10 min, 4 mL del sobrenadante se mezclaron con ácido metafosfórico (solución al 25 %) y se almacenó a -10 °C hasta el análisis de laboratorio.

Análisis microbiológicos

La concentración de bacterias totales se determinó por recuento directo en una cámara Petroff-Hausser (Hausser Scientific, USA) con un microscopio de contraste (magnificación total de 1000x). La concentración total de bacterias mL⁻¹ de fluido ruminal se calculó como el producto de la media de células contabilizadas en un volumen de 0.05×0.5×0.2 mm por 2×10⁷. La concentración de bacterias celulolíticas se calculó usando la técnica del número más probable (NMP, Harrigan y McCance, 1979) después de incubar fluido ruminal en tubos de cultivo (por triplicado) que contenían un medio anaerobio líquido preparado de acuerdo con Hungate (1969) y Cobos *et al.* (2002). El crecimiento positivo fue confirmado por la degradación del papel Whatman 541 después de 10 d de incubación a 38.5 °C. La concentración de protozoarios mL⁻¹ de fluido ruminal se determinó con una cámara Neubauer (Marienfeld, USA). Antes del recuento, 5 mL de fluido ruminal se mezclaron con 5 mL de una solución de formaldehído (50 mL de formaldehído al 18.5 % en 50 mL de agua destilada). La concentración de protozoarios se expresó como el producto de la media de protozoarios en un volumen de 1×1×0.1 mm multiplicada por 2×10⁴ (factor de dilución).

Concentración de amoníaco y AGV en rumen

Se usó el método del fenol-hipoclorito (McCulloch, 1967) para medir la concentración de amoníaco. Cuatro mL de fluido ruminal se acidificaron con 1 mL de una solución de ácido metafosfórico (25 mL de ácido metafosfórico en 75 mL de agua destilada) y se centrifugó a 20 000 × g por 15 min. La absorbancia del sobrenadante se midió a 630 nm en un espectrofotómetro Lambda 40 (PerkinElmer). El sobrenadante también se usó para

Animals

Thirty male lambs (Suffolk×Corriedale; average weight 24.87±1.7 kg) were randomly distributed in three groups and individually housed in corrals (1.0×2.4 m), during 70 d: adaption period 10 d, and experimental period 60 d. During the adaptation period the lambs received antiparasites and a supplement with vitamin ADE.

Treatments and diets

The treatments were three diets: without PET (T1=PET-0) or with 100 (T2=PET-100) and 200 g (T3=PET-200) of ground bottles kg⁻¹ DM. The diets were formulated with the program Nutrion (2002) according to the nutritional requirements for growing lambs with daily weight gain of 200 g (NRC, 1985) (Table 1). The diets and the ground PET were analyzed to determine DM, PC, ash (AOAC, 1990; procedures: 934.01, 976.05 and 927.02), aADF (ADF technique with heat stable amylase) and ADF (Van Soest *et al.*, 1991). The PET does not contain cellulose, hemicelluloses, lignin or ash, and resists acid and alkaline digestion from the technique described by Van Soest (1991), thus everything is recovered as ADF.

Performance trial

The lambs were fed *ad libitum* and the feed was provided at 0800 and 1600 h: to calculate feed intake the offered and rejected feed was weighed daily. The lambs were weighed after an 8 h fast every 15 d to calculate daily weight gain. The data of feed intake and weight gain were used to calculate feed conversion (feed intake/weight gain) in periods of 15 d.

Collection and analysis of rumen fluid

The samples (200 mL) of ruminal fluid were obtained via esophagus 3 h after the morning feeding on days 15, 30, 45 and 60. The samples were filtered through three layers of cotton cloth and in 50 mL of these the pH was measured, along with concentration (per mL) of total bacteria, cellulolytic bacteria and protozoa. For the analysis of VFA (acetate, propionate and butyrate) and NH₃-N, 10 mL of ruminal fluid was centrifuged at 12 000 × g for 10 min, 4 mL of the supernatant were mixed with metaphosphoric acid (solution 25 %) and was stored at -10 °C until the laboratory analysis.

Microbiological analyses

Concentration of total bacteria was determined by direct count in a Petroff-Hausser chamber (Hausser Scientific, USA)

el análisis de AGV en un cromatógrafo de gases modelo Clarus 500 (PerkinElmer) equipado con una columna capilar Elite FFAP. El hidrógeno fue el gas acarreador, con flujo de 15 mL min⁻¹. La temperaturas del inyector, detector y estufa fue 200, 250 y 140 °C.

Análisis estadísticos

El diseño experimental fue completamente al azar con tres tratamientos y 10 repeticiones. El análisis de varianza de los datos del consumo de alimento, ganancia de peso, comportamiento animal, conversión alimenticia, pH, amoníaco, AGV, bacterias totales y protozoarios se hizo con el procedimiento MIXED (SAS, 1999). Las medias de los tratamientos se compararon con la prueba de Tukey ($p \leq 0.05$). Los datos de la concentración de bacterias celulolíticas se analizaron por intervalos de confianza (Harrigan y McCance, 1979).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El consumo de alimento fue mayor ($p \leq 0.05$) en el tratamiento PET-100 que en PET-0 y PET-200 en los primeros 15 d (Cuadro 2); entre 15 y 30 d el consumo fue menor ($p \leq 0.05$) en PET-200 con respecto a PET-0 y PET-10; entre 30 y 60 d no hubo diferencias ($p > 0.05$) entre tratamientos. La ganancia diaria de peso durante los primeros 30 d fue mayor ($p \leq 0.05$) en los tratamientos PET-0 y PET-100 en comparación con PET-200; después no hubo diferencias. Estos resultados se reflejaron en la conversión alimenticia que fue mejor ($p \leq 0.05$) en los borregos de los tratamientos con PET-0 y PET-100 en los primeros 15 d.

El análisis de los resultados muestra que el PET de envases triturados es un material inerte que puede sustituir al rastrojo de maíz (como fuente de fibra), sin un efecto negativo en consumo de alimento, ganancia de peso o en conversión alimenticia de borregos en crecimiento. En contraste, 200 g de polietileno kg⁻¹MS disminuyeron 42.9 % el consumo de alimento de novillos debido a la salida lenta de las partículas de polietileno del rumen (Boling *et al.*, 1969).

En el periodo experimental (60 d) no hubo diarrea, estreñimiento o infecciones intestinales, ni muerte en los borregos. Este resultado es similar a los obtenidos con ratas y ratones por de Fusca *et al.* (1990) y Monarca *et al.* (1994), quienes indican que la ingestión de PET es biológicamente inerte,

with a contrast microscope (total magnification of 1000x). The total concentration of bacteria mL⁻¹ of ruminal fluid was calculated as the product of the mean of the cells counted in a volume of 0.05×0.5×0.2 mm by 2×10⁷. The concentration of cellulolytic bacteria was calculated using the technique of the most probable number (MPN, Harrigan and McCance, 1979) after incubating ruminal fluid in culture tubes (by triplicate) that contained a liquid anaerobic medium prepared according to Hungate (1969) and Cobos *et al.* (2002). The positive growth was confirmed by the degradation of the Whatman 541 paper after 10 d of incubation at 38.5 °C. The concentration of protozoa mL⁻¹ of ruminal fluid was determined with a Neubauer camera (Marienfield, USA). Prior to the count, 5 mL of ruminal fluid were mixed with 5 mL of a solution of formaldehyde (50 mL of formaldehyde at 18.5 % in 50 mL of distilled water). The concentration of protozoa was expressed as the product of the mean of protozoa in a volume of 1×1×0.1 mm multiplied by 2×10⁴ (dilution factor).

Concentration of ammonia and VFA in rumen

The phenol-hypochlorite method (McCulloch, 1967) was used to measure the concentration of ammonia. Four mL of ruminal fluid were acidified with 1 mL of a solution of metaphosphoric acid (25 mL of metaphosphoric acid in 75 mL of distilled water) and was centrifuged at 20 000 × g for 15 min. The absorbance of the supernatant was measured to 630 nm in a Lambda 40 spectrophotometer (Perkin Elmer). The supernatant was also used for the analysis of VFA in a gas chromatograph model Clarus 500 (Perkin Elmer) equipped with an Elite FFAP capillary column. The hydrogen was the gas carrier, with a flow of 15 L min⁻¹. The temperatures of the injector, detector and oven were 200, 250 and 140 °C.

Statistical analyses

The experimental design was completely randomized with three treatments and 10 replicates. The analysis of variance of the data of feed intake, weight gain, animal behavior, feed conversion, pH, ammonia, VFA, total bacteria and protozoa was made with the MIXED procedure (SAS, 1999). The means of the treatments were compared with the Tukey test ($p \leq 0.05$). The data of the concentration of cellulolytic bacteria were analyzed by confidence intervals (Harrigan and McCance, 1979).

RESULTS AND DISCUSSION

Feed intake was higher ($p \leq 0.05$) in the treatment PET-100 than in PET-0 and PET-200 in the first

Cuadro 2. Variables productivas de borregos alimentados con dietas con envases de PET trituradas.
Table 2. Productive variables of lambs fed with diets with ground PET bottles.

Periodo [†]	Tratamientos			
	PET-0	PET-100	PET-200	EEM [‡]
Consumo de alimento (kg base seca d ⁻¹)				
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
Ganancia de peso vivo (g d ⁻¹)				
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	216.00	220.90	223.90	33.29
Promedio [§]	202.58 ab	214.68 a	193.07 b	15.53
Peso inicial (kg)	27.03	25.91	26.67	0.80
Peso final (kg)	39.19	38.79	38.25	0.59
Ganancia (kg)	12.28	12.72	11.62	0.59
Conversión alimenticia				
1	5.26 ab	4.44 a	6.37 b	1.78
2	5.81	5.71	6.50	1.78
3	4.57	5.29	4.69	1.78
4	5.78	5.83	5.58	1.78
Promedio [§]	5.31	5.30	5.63	0.89

a, b: Diferencia significativa ($p \leq 0.05$) por periodo entre hileras
 ♦ Significant difference ($p \leq 0.05$) per period among rows.

[†] Cada periodo fue de 15 d ♦ Each period was of 15 d.

[‡] Error estándar de la media ♦ Standard error of the mean.

[§] Promedio de todo el experimento (60 d) ♦ Average of the entire experiment (60 d).

PET: polietilentereftalato de envases de refresco triturados ♦ polyethylene terephthalate of ground soft drink bottles.

PET-0, PET-100 y PET-200, dietas sin y con 100 and 200 g PET kg⁻¹ MS ♦ PET-0, PET-100 and PET-200, diets without and with 100 and 200 g PET kg⁻¹ DM.

sin efecto negativo en la salud animal. En el presente estudio hubo partículas de PET en las heces, sin evidencias de degradación y la cantidad fue 28.13 y 43.23 g por 100 g (base seca) en borregos de los tratamientos PET-100 y PET-200. Por tanto, antes de recomendar el reciclaje de envases de PET como fuente de fibra en rumiantes, se requiere evaluar el posible impacto ambiental de la acumulación de PET molido en el suelo. El PET no excretado permanece en el rumen y su salida depende entre otros factores, de la densidad específica y tamaño de partícula del plástico (Welsh, 1990).

15 d (Table 2); between 15 and 30 d intake was lower ($p \leq 0.05$) in PET-200 with respect to PET-0 and PET-100; between 30 and 60 d there were no differences ($p > 0.05$) among treatments. The daily weight gain during the first 30 d was higher ($p \leq 0.05$) in the treatments PET-0 and PET-100 in comparison with PET-200; afterward there were no differences. These results were reflected in the feed conversion, which was better ($p \leq 0.05$) in the lambs of the treatments with PET-0 and PET-100 in the first 15 d.

The analysis of the results shows that the PET of ground bottles is an inert material that can substitute corn stalks (as fiber source), without any negative effect on feed intake, weight gain or feed conversion in growing lambs. In contrast, 200 g of polyethylene kg⁻¹ DM diminished feed intake by 42.9 % of steers due to the slow exit of the polyethylene particles from the rumen (Boling *et al.*, 1969).

During the experimental period (60 d), there was no diarrhea, constipation or intestinal infections, nor death in the lambs. This result is similar to those obtained with rats and mice by de Fusca *et al.* (1990) and Monarca *et al.* (1994), who indicate that the ingestion of PET is biologically inert, with no negative effect on animal health. In the present investigation there were PET particles in the feces, without evidence of degradation and the amount was 28.13 and 43.23 g per 100 g (dry base) in lambs of treatments PET-100 and PET-200. Therefore, before recommending the recycling of PET bottles as fiber source in ruminants, it is necessary to evaluate the possible environmental impact of the accumulation of ground PET in the soil. The non-excreted PET remains in the rumen and its exit depends, among other factors, on the specific density and size of the plastic particles (Welsh, 1990).

Concentration of VFA, ammonia and pH

The concentration of VFA and pH was maintained without change ($p > 0.05$) among the treatments; whereas the ammonia concentration was higher ($p \leq 0.05$) in PET-100 and PET-200 with respect to PET-0. Therefore, only the average values of these variables are presented during the experimental period (Table 3). The ruminal pH fluctuated from 6.25 to 6.35; to this respect, Boling *et al.* (1969) and Cunningham *et al.* (1972) obtained similar results

Concentración de AGV, amoniaco y pH

La concentración de AGV y pH se mantuvo sin cambio ($p>0.05$) entre los tratamientos; mientras que la concentración de amoniaco fue mayor ($p\leq 0.05$) en PET-100 y PET-200 respecto a PET-0. Por tanto, sólo se presentan los valores promedio de estas variables durante el periodo experimental (Cuadro 3). El pH ruminal fluctuó de 6.25 a 6.35; al respecto, Bolling *et al.* (1969) y Cunningham *et al.* (1972) obtuvieron resultados similares y señalan que el porcentaje relativo de los AGV ruminales fue significativamente estable en novillos o vacas alimentados durante 105 d con dietas que contenían 10 y 20 % (base seca) de polietileno. La concentración mayor de amonio en el rumen de los borregos de los tratamientos PET-100 y PET-200 coincide con el contenido mayor de urea de estas dietas (Cuadro 1). En general, la concentración de N-NH₃ determinada en los tres tratamientos fue mayor a la concentración óptima (8 a 12 mg dL⁻¹) para crecimiento y actividad de microorganismos ruminales (Cobos, 2007).

El rastrojo de maíz tiene valor nutritivo bajo pero se usa ampliamente como fuente de fibra para promover la masticación y el flujo de los amortiguado-

Cuadro 3. Promedio de variables ruminales en borregos alimentados con dietas con envases de PET triturados.

Table 3. Average of ruminal variables in lambs fed with diets with ground PET bottles.

Variable	Tratamiento			
	PET-0	PET-10	PET-20	EEM [†]
pH	6.30	6.25	6.35	0.05
N-NH ₃ , mg dL ⁻¹	19.62b	30.74a	32.55a	1.96
AGV, mmol L ⁻¹				
Acetato	53.61	54.20	51.89	2.31
Propionato	23.12	23.73	26.34	1.97
Butirato	9.21	9.60	9.32	0.83
Acetato/propionato	2.45	2.40	2.22	0.10

a,b Medias en la misma hilera con diferente literal son diferentes ($p\leq 0.05$) ♦ Means in the same row with different literal are different ($p\leq 0.05$).

[†]Error estándar de la media ♦ Standard error of the mean.

PET: polietilentereftalato de envases de refresco triturados ♦ polyethylene terephthalate of ground soft drink bottles.

PET-0, PET-100 and PET-200: dietas sin y con 100 y 200 g PET kg⁻¹ MS ♦ PET-0, PET-100 and PET-200: diets without and with 100 and 200 g PET kg⁻¹ DM.

and point out that relative percentage of the ruminal VFA was significantly stable in steers or cows fed during 105 d with diets that contained 10 and 20 % (dry base) of polyethylene. The higher concentration of ammonia in the rumen of the lambs with treatments PET-100 and PET-200 coincides with the higher content of urea of these diets (Table 1). In general, the concentration of NH₃-N, determined in the three treatments was higher than the optimum concentration (8 to 12 mg dL⁻¹) for growth and activity of ruminal microorganisms (Cobos, 2007).

Corn stalks have low nutritional value, but are widely used as fiber source to promote mastication and the flow of the pH buffers of the saliva to the rumen (Yang and Beuchemin, 2007). The PET in treatments PET-100 and PET-200 complied with this function, given that the ruminal pH was similar among treatments. This effect is not generated by other plastic materials; thus, the ground polyethylene used in substitution of fodder for dairy cows acidified the ruminal fluid (Cunningham *et al.*, 1972).

Ruminal bacteria and protozoa

The concentration of total bacteria varied from 2.84 to 2.97×10¹⁰ mL⁻¹ and that of cellulolytic bacteria from 1.32 to 1.66×10⁸ mL⁻¹ of ruminal fluid, without differences ($p>0.05$) among treatments (Table 4). The concentration of total and cellulolytic bacteria in the rumen of the lambs of this investigation is considered normal in healthy animals (Russell and Rytchlik, 2001). The concentration of ruminal protozoa in treatments PET-100 and PET-200 decreased ($p\leq 0.05$) with respect to PET-0; however, the three concentrations are found within the normal interval, which varies from 10⁴ to 10⁶ protozoa mL⁻¹ of ruminal fluid (Cobos, 2007). Therefore, the inclusion of PET bottles in the diet did not have a negative effect on the concentrations of ruminal bacteria and protozoa (Table 4).

CONCLUSIONS

Ground PET bottles, as a substitute for fiber or inert material, can replace between 50 and 100 % of the corn stover in diets formulated for lambs with an average daily weight gain of 200 g, without affecting feed intake, feed conversion, ruminal fermentation, or the concentration of ruminal bacteria and protozoa.

res de pH de la saliva al rumen (Yang y Beuchemin, 2007). El PET en los tratamientos PET-100 y PET-200 cumplió con esta función, ya que el pH ruminal fue similar entre tratamientos. Este efecto no lo generan otros materiales plásticos; así, el polietileno granulado usado en sustitución del forraje para vacas lecheras, acidificó el fluido ruminal (Cunningham *et al.*, 1972).

Bacterias y protozoarios ruminales

La concentración de bacterias totales varió de 2.84 a 2.97×10^{10} mL⁻¹ y la de bacterias celulolíticas de 1.32 a 1.66×10^8 mL⁻¹ de fluido ruminal, sin diferencias ($p > 0.05$) entre tratamientos (Cuadro 4). La concentración de bacterias totales y celulolíticas en el rumen de los borregos en este estudio, se considera normal en animales sanos (Russell y Rytchlik, 2001). La concentración de protozoarios ruminales en los tratamientos PET-100 y PET-200 disminuyó ($p \leq 0.05$) respecto a PET-0; sin embargo, las tres concentraciones se encuentran dentro del intervalo normal, que varía de 10^4 a 10^6 protozoarios mL⁻¹ de fluido ruminal (Cobos, 2007). Por tanto, la inclusión de envases de PET en la dieta no afectó negativamente las concentraciones de bacterias y protozoarios ruminales (Cuadro 4).

CONCLUSIONES

Los envases de PET triturados, como sustituto de fibra o material inerte, pueden reemplazar entre 50 y 100 % del rastrojo de maíz en dietas formuladas para borregos con una ganancia diaria de peso promedio de 200 g, sin afectar el consumo de alimento, la conversión alimenticia, la fermentación ruminal, ni la concentración de bacterias y protozoarios ruminales. Sin embargo, la dieta con 100 g de PET kg⁻¹ de alimento es más segura que la dieta con 200 g de PET, ya que el contenido de PET en las heces es menor y, por tanto, también lo es su dispersión en el suelo. El PET no excretado permanece en el rumen y su salida depende de la densidad específica y tamaño de partícula. Por tanto, el uso de botellas de PET trituradas en dietas para ruminantes puede ser una alternativa para reciclar este desecho, que representa un problema serio de contaminación ambiental.

Cuadro 4. Concentración por mL de fluido ruminal de bacterias totales, celulolíticas y protozoarios en borregos alimentados con dietas con PET de envases triturados.

Table 4. Concentration per mL of ruminal fluid of total and cellulolytic bacteria and protozoa in lambs fed with diets with ground PET bottles.

	Tratamientos			
	PET-0	PET-100	PET-200	EEM†
Bacterias totales, 10 ¹⁰ mL ⁻¹	2.97	2.84	2.84	0.27
Bacterias celulolíticas, 10 ⁸ mL ⁻¹	1.32	1.66	1.42	0.48
Protozoarios, 10 ⁵ mL ⁻¹	2.49a	1.87ab	1.64b	0.32

a,b Medias en una hilera con diferente literal son diferentes ($p \leq 0.05$) ♦ Means in a row with different literal are different ($p \leq 0.05$).

†Error estándar de la media ♦ Standard error of the mean.

PET: polietilentereftalato de envases de refresco triturados ♦ polyethylene terephthalate of ground soft drink bottles.

PET-0, PET-100 and PET-200: dietas sin y con 100 y 200 g PET kg⁻¹ MS ♦ PET-0, PET-100 and PET-200: diets without and with 100 and 200 g PET kg⁻¹ DM.

However, the diet with 100 g of PET kg⁻¹ of feed is safer than the diet with 200 g of PET, given that the PET content in the feces is lower, and therefore, so is its dispersal in the soil. The non-excreted PET remains in the rumen and its exit depends on the specific density and size of the particle. Therefore, the use of ground PET bottles in diets for ruminants can be an alternative for recycling this waste material, which represents a serious problem of environmental contamination.

—End of the English version—

-----*

AGRADECIMIENTOS

A la Línea de investigación 7 Inocuidad, Calidad de Alimentos y Bioseguridad (Colegio de Postgraduados) por el apoyo económico recibido. Al CONACYT-México, por el apoyo económico recibido mediante el proyecto nun. 37946-B "Aislamiento

de un inóculo de bacterias ruminales lignolíticas y producción de un inóculo con potencial para degradar aserrín y polietilenterefalato”

LITERATURA CITADA

- AOAC. Association of Official Analytical Chemist 1990. Official methods of analysis, 5th edition. AOAC, Washington, DC. 1094 p.
- Bertelli, C. 2009. PET: Current recycling trends. <http://www.asiafoodjournal.com/article-3681-petcurrentrecycling-trends-Asia.html>. (Consulta: junio 2009).
- 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.
- Cobos P, M. A. 2007. Interacciones entre microorganismos ruminales. *In: Ferrera-Cerrato, R., y A. Alarcón (eds). Microbiología Agrícola: Hongos, Bacterias, Micro y Macrofauna, Control Biológico y Planta Microorganismo.* Editorial Trillas México, D.F. pp: 498-516.
- Cobos P, M. A., L. E. García, S. S. González, J. R. Barcena, D. S. Hernández, and M. Pérez-Sato. 2002. The effect of shrimp shell waste on ruminal bacteria and performance of lambs. *Anim. Feed Sci. Technol.* 95:179-187.
- Cunningham, J. L., L. J. Bush, and G. D. Adams. 1972. Effects of feeding polyethylene Pellets to cows receiving an all-concentrate diet. *J. Dairy Sci.* 55:1787-1791.
- de Fusca, R., S. Monarca, D. Biscardi, R. Pasquini, and C. Fatigoni. 1990. Leaching of mutagens into mineral water from polyethylene terephthalate bottles. *Sci. Total Environ.* 90: 241.
- Gurudatt, K., A. K. Rakshit, and M. K. Bardhan. 2005. Dope-dyed polyester fibers from recycled PET wastes for use in molded automotive carpets. *J. Ind. Textiles* 34:167-179.
- Harrigan, W. F., and M. E. McCance. 1966. *Laboratory Methods in Microbiology.* Academic Press. New York. 362 p.
- Hungate, R. E. 1969. A roll tube method for cultivation of strict anaerobes. *In: Norris J. R., and D. W. Ribbons (eds.). Methods in Microbiology.* Academic Press Inc., New York, USA. pp. 117-132.
- Jiayi, L., and G. Ji-Dong. 2006. Biodegradation of dimethyl terephthalate by *Pasteurella multocida* Sa follows an alternative biochemical pathway. *Ecotoxicology* 15:391-397.
- Kleerebezem, R., L. W. Hulshoff, and G. Lettinga. 1999. The role of benzoate in anaerobic degradation of terephthalate. *Appl. Environ. Microbiol.* 65:1161-1167.
- McCullough, H. 1967. The determination of ammonia in whole blood by direct colorimetric method. *Clinical Chem.* 17:297-304.
- Monarca, S., R. de Fusca, D. Biscardi, V. de Feo, R. Pasquini, C. Fatigoni, M. Moretti, and A. Zanardini. 1994. Studies of migration of potentially genotoxic compounds into water stored in pet bottles. *Food Chem. Toxicol.* 32:783-795.
- NRC. 1985. National Research Council. *Nutrient Requirements of Sheep.* 6th edition. National Academic of Science. Washington, DC. 104 p.
- NUTRION. 2002. Manual de operación. Versión 5 pro. Comercializadora de software, S. A. de C. V. Guadalajara, Jalisco. México. 106 p.
- Operadora de Fondos Lloyd, S.A., © 2005. Allen W. Lloyd, S.A. de C.V. <http://www.mexconnect.com/MEX/lloyds/llydeco0905.html>. (Consulta: noviembre, 2006).
- Qiu, Y. L., Y. Sekiguchi, H. Imachi, Y. Kamagata, I. C. Tseng, S.S. Cheng, A. Ohashi, and H. Harada. 2003. Identification and isolation of anaerobic, syntrophic phthalate isomers-degrading microbes from methanogenic sludges treating wastewater from terephthalate manufacturing. *Appl. Environ. Microbiol.* 70:1617-1626.
- Russell, J. B., and J. L. Rychlik. 2001. Factors alter rumen microbial ecology. *Science* 292:1119-1122.
- SAS. Institute Inc. 1999. *SAS8 User's Guide: Statistics.* Version 8.0. ed. SAS Inst., Inc., Cary, NC, USA. 956 p.
- Schmid, P., M. Kohler, R. Meierhofer, S. Luzi, and M. Wegelin. 2008. Does the reuse of PET bottles during solar water disinfection pose a health risk due to the migration of plasticizers and other chemicals into the water? *Water Res.* 42:5054-5060.
- 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.
- Welch, J.G. 1990. Inert plastics as indicators of physiological processes in the gastrointestinal tract of ruminants. *J. Anim. Sci.* 68:2930-2935.
- Wu, J.H., W.T. Liu, I.C. Tseng, and S.S. Cheng. 2001. Characterization of microbial consortia in a terephthalate-degrading anaerobic granular sludge system. *J. Microbiol.* 147:373-382.
- Yang, W.Z., and K.A. Beauchemin. 2007. Altering physically effective fiber intake through forage proportion and particle length: chewing and ruminal pH. *J. Dairy Sci.* 90:2826-2838.
- Zebeli, Q., J. Dijkstra, M. Tafaj, H. Steingass, B.N. Ametaj, and W. Drochner. 2008. Modeling the adequacy of dietary fiber in dairy cows based on the responses of ruminal pH and milk fat production to composition of the diet. *J. Dairy Sci.* 91:2046-2066.