

Efecto de la sustitución energética del maíz (*Zea mays*) en dietas para rumiantes sobre la producción de metano *in vitro*

C Restrepo¹, R R Noguera y S L Posada

*Grupo de Investigación en Ciencias Agrarias-GRICA, Facultad de Ciencias Agrarias,
Universidad de Antioquia - UdeA, AA 1226, Medellín, Colombia*

¹ *Solla S. A, Carrera 42 No. 33- 80 Itagüí, Colombia*

jaime.rosero@udea.edu.co

Resumen

El objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto de dietas basadas en forraje y alternativas de suplemento comercial que pueden ser usadas en lechería especializada. Se trabajó con 4 suplementos: en el primero, la materia prima principal para el aporte de energía, fue el grano de maíz (*Zea mays*) (MZ), los demás suplementos se obtuvieron por la sustitución del 50% de TDN aportado por el grano de maíz por otras materias primas como Sorgo grano (*Sorghum vulgare*) (SG), yuca raíz (*Manihot esculenta*) (YC) y pulpa cítrica de naranja deshidratada (*Citrus sinensis*) (PCD). Los tratamientos fueron mezclas en una proporción 60:40 de forraje (F) (*Cenchrus clandestinum* de 37 días de rebrote) con los suplementos, quedando 4 tratamientos FMZ, FSG, FYC y FPCD. Las variables evaluadas fueron degradación de materia seca (DMS), producción de metano (CH₄), pérdidas energéticas por CH₄ y perfil de fermentación, a través de la técnica *in vitro* de producción de gases (TIVPG). Los horarios de incubación evaluados fueron 6, 12 y 24 horas. Las variables fueron analizadas a través de un diseño de medidas repetidas en el tiempo. La comparación de medias se realizó con un nivel de significancia del 5%, mediante la prueba t.

Se observó mayor DMS a las 24 horas para el tratamiento FMZ (65.5%) y menor para FPCD (60.6%), los valores de digestibilidad para FSG y FY fueron intermedios (62.7 y 62.6%). La producción de ácido acético y butírico no varió en ningún horario ni tratamiento. De las dietas evaluadas, los mejores resultados para las variables analizadas DMS, producción de CH₄ (33.3 ml/gMS degradada), y ácido propiónico (34 mmol/L), los presentó el maíz, siendo la mejor fuente para disminuir la producción de CH₄, seguido de la yuca quien presentó igualdad estadística en la producción de propionato en el horario 24 (44.3 mmol/L).

Palabras claves: *degradación, energía, forraje, gases*

Energy substitution effect of maize (*Zea mays*) in ruminant diets on methane production *in vitro*

Abstract

The objective of this study was to evaluate the effect of diets based on forage and commercial supplement alternatives that can be used in specialized dairy. We worked with 4 supplements: in the first, the main material for energy supply premium, was the corn grain (*Zea mays*) (MZ), other supplements were obtained by the replacement of 50% of TDN provided by the grain corn for other commodities such as Sorghum grain (*Sorghum vulgare*) (SG), cassava root (*Manihot esculenta*) (YC) and dried orange citrus pulp (*Citrus sinensis*) (PCD). The treatments were 60:40 mixtures of forages (F) (*Cenchrus clandestinum* 37 days of regrowth) with supplements, leaving 4 treatments FMZ, FSG, FYC and FPCD. The variables evaluated were degradation of dry matter (DMS), production of methane (CH_4), energy losses CH_4 and fermentation profile, using *in vitro* gas production technique (TIVPG). Incubation times were evaluated to 6, 12 and 24 hours. The variables were analyzed via a repeated measures design in time. The comparison of means was performed with a significance level of 5%, by t test. DMS greater was observed at 24 hours for treatment FMZ (65.5%) and less for FPCD (60.6%), digestibility values for FSG and FY were intermediate (62.7 y 62.6%). The production of acetic and butyric acid did not change in any schedule or treatment. Diets tested, the best results for the analyzed variables DMS, production of CH_4 (33.3 ml/gMS degraded), and propionic acid (34 mmol/L), were showed by the corn, still the best source to decrease the production of CH_4 , followed by cassava who presented statistical equality in propionate production in 24 hours (44.3 mmol/L).

Keywords: *degradation, energy, forage, gases*

Introducción

El CH_4 hace parte de los gases de efecto invernadero (GEI), se produce por fermentación anaerobia de material orgánico, tiene 21 veces más poder de calentamiento que el dióxido de carbono y representa un 14.3% del total de GEI (IPCC 2007). Se estima que la población mundial de los rumiantes produce alrededor del 15 a 17% del total de las emisiones de CH_4 (Moss et al 2000, IPCC 2007). Este gas posee un efecto negativo a nivel ambiental y representa una pérdida de la energía consumida por el animal (Bonilla y Lemus 2012) que no puede ser transformada en leche o en carne.

De acuerdo a la naturaleza y velocidad de fermentación de los carbohidratos de la dieta se pueden reducir las emisiones de CH_4 del ganado a través de modificaciones en las proporciones de ácidos grasos volátiles (AGVs) sintetizados en el rumen (Johnson y Johnson 1995). Las dietas ricas en carbohidratos no estructurales (CNE) disminuyen la síntesis de acetato y favorecen la producción de propionato; este último compite con el CO_2 por la captura de electrones (hidrógeno), necesarios para la síntesis de CH_4 (Beauchemin et al 2008). Entre el 3 y el 12% de la energía de la energía consumida por los rumiantes es transformada en CH_4 . Desde este punto de vista, reducir la producción de CH_4 entérico al mejorar la calidad de la dieta traería como ventajas: incrementar el desempeño animal por conservación de la energía, reducir los costos de alimentación por una mayor eficiencia en el uso de la energía y reducir el impacto de la producción ganadera sobre el ambiente.

Una de las fuentes energéticas más empleadas en la elaboración de los suplementos para vacunos lecheros es el maíz; esto debido a su alto valor energético, alto contenido de almidón y bajo nivel de fibra. Estas características lo convierten en una materia prima muy demandada, no solo para la alimentación animal y humana sino también para la producción de biocombustibles, hecho que ha reducido su disponibilidad e incrementado su valor comercial. En estas condiciones, ha crecido el interés por la evaluación de materias primas alternativas que replacen al maíz, sin afectar el

desempeño animal y que por sus características nutricionales puedan contribuir a reducir las emisiones de CH₄ entérico. La pulpa cítrica, la harina de yuca y el sorgo son materias primas que podrían cumplir con las demandas antes planteadas.

La pulpa cítrica (PC) subproducto de la extracción industrial del jugo de naranja, tiene un alto potencial de degradabilidad ruminal y puede ser suministrado tal cual, ensilada o deshidratada en ganado lechero y de engorde (Lashkari y Taghizadeh 2015). Se desconoce el impacto de este subproducto sobre la producción de CH₄, pues contribuye con menos efectos negativos a la fermentación ruminal comparada con alimentos ricos en almidón (Bampidis y Robinson 2006).

La fermentación de la PC genera mayor de acetato, menor producción de propionato y lactato; y a pesar de que fermenta tan rápidamente como el almidón, no deprime el pH ruminal, convirtiéndose en un alimento que tiene menor potencial para propiciar cuadros de acidosis láctica (Strobel y Russell 1986; Hatfield y Weimer 1995; Schalch et al 2001; Arthington et al 2002; Bampidis y Robinson 2006) ya que posee un alto contenido de pectinas (22%-31%) y fibra de alta calidad (23% FDN, digestible en rumen un 82-89% y 15% FDA, digestible en rumen en un 72%) (Keller 1984; Bampidis y Robinson 2006; Lashkari y Taghizadeh 2015).

El grano de sorgo presenta una tasa de fermentación más lenta que la del maíz debido a la dureza de la matriz proteica, haciendo al grano más resistente a la hidratación y a la penetración de enzimas (Herrera-Saldana et al 1990; Theurer et al 1999). Por su parte, la raíz de yuca, presenta una degradabilidad efectiva del almidón mayor que la del maíz y el sorgo, esto debido a la ausencia de pericarpio, endospermo córneo y periférico, matriz proteica y una menor proporción de amilosa que la observada en los cereales (Zeoula y Caldas 2001). Estas diferencias en composición y estructura de los gránulos de almidón alteran el patrón de fermentación ruminal, el aporte energético de la dieta y finalmente la eficiencia de la utilización de la energía del alimento.

El objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto de la sustitución del maíz (*Zea mays*) por fuentes alternativas de energía (pulpa cítrica, sorgo y yuca) en dietas para rumiantes sobre digestibilidad de la MS, perfil de fermentación y producción de CH₄ *in vitro*.

Materiales y métodos

Sustratos

Fueron evaluados cuatro suplementos comerciales formulados para ser isoenergéticos e isoprotéicos (Tabla 1). Los suplementos fueron incubados con pasto Kikuyo (*Cenchrus clandestinum*) de 37 días de rebrote, en una proporción de 1.5:1 (pasto: suplemento comercial). El suplemento testigo tuvo como principal materia prima aportante de energía al grano de maíz (MZ). Los restantes suplementos fueron formulados con grano de sorgo (*Sorghum vulgare*) (SG), harina de yuca (*Manihot esculenta*) (YC) y pulpa cítrica de naranja deshidratada (*Citrus sinensis*) (PCD) de tal manera que remplazaran el 50% del total de nutrientes digestibles (TDN) aportados por el maíz. Después del mezclado, los suplementos comerciales se peletizaron a una temperatura media en el acondicionador de 68 °C y una presión de vapor de 55 libras por pulgada cuadrada (PSI).

Tabla 1. Ingredientes y composición química de los suplementos comerciales y del pasto Kikuyo.

Ingredientes (%)¹	MZ	SG	YC	PCD	Kikuyo
Maíz grano	44.3	21.8	19.3	23.9	
Sorgo grano	-	22.5	-	-	
Yuca raíz	-	-	20.5	-	
Pulpa cítrica	-	-	-	25.8	
Maíz forraje	10	9.3	10	5.0	
Salvado de trigo	11.2	10	11.8	10	
Harina de arroz	8.6	10.8	11.7	7.6	
Torta de girasol	8.0	8	5.04	8	
Torta de soya	8.4	8	12.2	11.2	
Melaza	4.4	4.4	4.4	4.4	
Carbonato de Calcio	3.7	3.7	3.7	2.3	
Sal	0.86	0.89	0.91	0.81	
Bicarbonato de Sodio	0.3	0.3	0.3	0.3	
Premezcla vit min ²	0.2	0.2	0.2	0.2	
Fuente de fósforo ³	0.17	0.1	-	0.58	
Composición química del pasto Kikuyo y los suplementos comerciales (% de la MS, salvo la MS que es en base de materia fresca)					
Materia seca, %	89.7	89.5	91.5	89.4	85.8
Proteína cruda	18	18.7	18.1	18.6	20.3
Extracto etéreo	4.3	4.3	4.3	4.6	3.1
Cenizas	8.6	8.8	9.5	8.4	10.6
Calcio	1.8	1.9	1.8	1.9	0.6
Fósforo	0.7	0.7	0.7	0.7	0.5
Fibra Cruda	4.6	4.9	5.2	7.7	-
Fibra detergente neutro	17	16.7	19	18.5	63.5
Fibra detergente ácido	8.4	9	8.4	12.6	30.5
CNF ⁴	52.1	51.5	49.1	49.9	2.5
Lignina	2.5	2.8	3	3.6	4.9
Pectinas	1.4	<1.0	<1.0	8.9	-
Energía bruta ⁵	4388	4440	4307	4439	4401
Nutrientes digestibles totales	71.4	70.6	71	71.8	-
Almidón	30.4	31.8	25.6	21.2	-
Amilosa, % del almidón	21.7	17.3	19.9	18.0	-
Amilopectina, % del almidón	78.3	82.7	80.1	82.0	-

¹ MZ=Maíz, SG= Sorgo (con 2.74% de taninos condensados), YC= Yuca, PCD= Pulpa cítrica deshidratada

² Premezcla vitamínico mineral, contenido: Vitamina A 2500000 UI/kg, Vitamina D3 750000 UI/kg, Vitamina E 2000 UI/kg, Hierro 12.5 g/kg, Cobre 2.5 g/kg, Manganeso 10 g/kg, Zinc 10 g/kg, Yodo 0.15 g/kg, Cobalto 0.025 g/kg y Antioxidante BHT 30 g/kg.

³ Fosfato tricálcico

⁴ CNF= Carbohidratos no fibrosos (100-(proteína cruda + extracto etéreo + fibra detergente neutro + cenizas)

⁵ expresada en calorías/gramo.

El pasto y los suplementos comerciales se analizaron para determinar su contenido de materia seca (MS) por gravimetría según la NTC 4888 (2000), proteína cruda (PB) por el método Kjeldahl, extracto etéreo (EE) con método soxhlet (EE), cenizas (MI) por incineración completa a 550° C de acuerdo con la AOAC (1990), calcio por titulación de acuerdo a NTC 302 (1998), fósforo por espectrofotometría de acuerdo a NTC 4981 (2001) (ambos por prueba colorimétrica), fibra cruda de acuerdo a NTC 5122 (2002), fibra detergente neutra (FDN), fibra detergente ácida (FDA), lignina (Van Soest et al 1991) y energía bruta (EB) en calorímetro adiabático (Cardona y Ayala 2004). Los taninos condensados se analizaron por espectrofotometría de acuerdo a NTC 602 (1999). Para la

determinación de almidón total y contenido de amilosa y amilopectina se utilizó el Kit comercial MEGAZYME ®: Total Starch Assay Kit y amylose/ amylopectin kit.

Técnica *in vitro* de producción de gases

Preparación del medio de cultivo

El día previo al inicio del experimento, el medio de cultivo se preparó siguiendo el protocolo de McDougall (1948): 9.8 g/l de NaHCO₃, 7 g/l de Na₂HPO₄·7H₂O, 0.57 g/l de KCl, 0.47 g/l NaCl, 0.12 g/l de MgSO₄·7H₂O, 0.04 g/l de CaCl₂. Los reactivos se disolvieron en agua destilada, y la solución resultante se saturó con CO₂ y se almacenó en estufa de ventilación forzada a 39 °C.

Preparación del inóculo ruminal e inoculación

Se trabajó con un total de tres inóculos, los dos primeros fueron obtenidos del contenido ruminal de dos vacas secas de raza Holstein con cánula permanente en el rumen, mantenidas bajo condiciones de pastoreo en pasto Kikuyo (*Cenchrus clandestinum*) y para el tercer inóculo, se realizó una mezcla del líquido ruminal de ambas vacas. Con el objetivo de mejorar la calidad del inóculo, ocho días antes de la colecta de líquido ruminal, a los animales se les proporcionó 1kg/día de suplemento comercial. El inóculo ruminal se extrajo manualmente y se almacenó en recipientes térmicos previamente calentados con agua a 40°C para su acopio y transporte. El líquido ruminal en el laboratorio se filtró por medio de dos capas de gasa, y se transfirió a un Erlenmeyer de 500 ml cubierto en la parte externa con papel aluminio para aislarlo de la luz directa, el inóculo fue gaseado continuamente con CO₂ y mantenido en baño María a 39°C.

Preparación de los frascos de incubación

Se emplearon frascos de color ámbar con capacidad de 100 ml, que fueron lavados con agua y secados en estufa de ventilación forzada a 65°C por 48 horas. Se adicionó 3.7g de ácido tricarbálico por cada litro de medio de cultivo media hora antes de servirlo, en todos los tratamientos, para mantener el pH medio un punto por debajo de 7, de acuerdo a Russel (1998). En cada frasco se pesaron 500 mg de sustrato, se agregaron 5 ml de líquido ruminal y 45 ml de medio de cultivo. Para mantener condiciones de anaerobiosis los frascos se gasearon con CO₂ y se sellaron con tapones de caucho e incubaron en estufa a 39°C.

Se usaron otros frascos con medio de cultivo e inóculo pero sin sustrato, para descontar la producción de gas causada por el gaseado con CO₂ y la presión procedente de la fermentación de los microorganismos inmersos en el líquido ruminal (Theodorou et al 1994).

Producción de gas, ácidos grasos volátiles y metano

En la parte superior de los frascos por la acumulación de gases, se genera una presión que fue medida a través de un manómetro (Ashcroft 2089QG - Precision Digital Test Gauges, USA), el valor que se obtuvo en unidades de presión (PSI) se transformó a volumen (ml) por medio de la ecuación $Y = -0.1833 + 5.2098X + 0.0598X^2$ (Posada et al 2006). En los horarios de incubación 6, 12 y 24 se realizaron las lecturas de presión y luego se hizo la colecta del gas generado en bolsas plásticas con sellado al vacío para la posterior determinación de concentración de CH₄ por cromatografía de gases.

Para determinar la concentración de CH₄ se tomó con una jeringa gas tight (Restek ®, USA) una muestra de 100 µl de gas que fue inyectada en un cromatógrafo de gases Thermo Trace GC Ultra

(Thermo Scientific, USA). Las condiciones cromatográficas fueron: horno con temperatura inicial de 30°C y una rampa de 30°C/minuto hasta 200 °C, detector FID (300°C), gas de arrastre helio (1 ml/min), temperatura del inyector 200 °C en modo split (50:1), columna de 30 metros, 0.32 mm y 0.25 µm. La concentración de CH₄ hallada por el cromatógrafo fue determinada según la metodología de López y Newbold (2007).

Degradación in vitro de la materia seca (DMS) y producción de ácidos grasos volátiles

La DMS se determinó por gravimetría, relacionando la materia seca degradada en los horarios 6, 12 y 24 horas con la materia seca incubada al inicio del experimento. En estos mismos horarios de incubación las muestras fueron acidificadas con ácido sulfúrico concentrado hasta alcanzar un pH de 2.5, de la fracción líquida fueron tomados (40 ml), centrifugados a 10000 rpm y almacenados a -20° C para la posterior determinación de los ácidos grasos volátiles por cromatografía de gases. Las condiciones cromatográficas fueron: horno con temperatura inicial de 68°C y una rampa de 10°C/minuto hasta 140°C, gas de arrastre helio, temperatura del inyector 21 °C en modo split (10:1), detector FID (300°C), columna RESTEK (FAMEWAX) de 30 metros, 0.32 mm de diámetro y 0.25 µm.

Análisis estadístico

Para determinar el efecto de los tratamientos sobre la DMS, la producción de ácidos grasos volátiles y CH₄, un análisis de medidas repetidas en el tiempo fue realizado con ayuda del procedimiento PROC MIXED de SAS (2001), teniendo en cuenta un nivel de significancia del 5% (P<0.05). En el modelo, los efectos fijos correspondieron a los tratamiento y los horarios de medición (tiempo), y como efecto aleatorio se consideró a los diferentes inóculos ruminales.

Resultados

La degradación *in vitro* de la materia seca (%) no fue afectada por las fuentes de carbohidratos en los horarios 6 y 12 horas (p>0.05) (Tabla 2). Transcurridas 24 horas de incubación el tratamiento con PCD presentó la menor degradación (60.6%), en tanto que los tratamientos con MZ, SG y YC fueron estadísticamente iguales para este parámetro (p>0.05).

Tabla 2. Efecto de la sustitución del maíz por fuentes alternativas de energía (pulpa cítrica, sorgo y yuca) en dietas para rumiantes sobre la degradación de la materia seca *in vitro* (%)

Tratamientos ¹	Tiempo de Incubación		
	6	12	24
FMZ ²	28.8 ± 2.1	42.6 ± 3.8	65.6 ± 1.0 a
FSG	27.1 ± 1.7	40.4 ± 3.1	62.7 ± 3.3 ab
FYC	30.2 ± 1.4	41.9 ± 0.9	62.6 ± 1.2 ab
FPCD	29.0 ± 0.8	38.8 ± 3.9	60.6 ± 1.2 b

1 Letras minúsculas diferentes en una misma columna indican diferencias estadísticas entre tratamientos (p<0.05)

2 Suplementos formulados con grano de maíz (FMZ), grano de sorgo (FSG), harina de yuca (FYC) y Pulpa cítrica deshidratada (FPCD)

El volumen acumulado de gases de la fermentación por gramo de materia seca degradada fue equivalente entre tratamientos en las primeras doce horas de incubación (p>0.05) (Tabla 3). Con 24

horas de incubación el tratamiento FMZ produjo el menor volumen de gases con 268 ml, en tanto que la producción de gas para los tratamientos FSG, FYC y FPCD varió entre los 319 y 324 ml.

Tabla 3. Efecto de la sustitución del maíz por fuentes alternativas de energía (pulpa cítrica, sorgo y yuca) en dietas para rumiantes sobre el volumen acumulado de gases *in vitro* (ml/g de materia seca degradada)

Tratamientos ¹	Tiempo de Incubación, h		
	6	12	24
FMZ ²	107 ± 23.7	239 ± 13.3	268 ± 29.4 b
FSG	102 ± 19.4	233 ± 14.7	319 ± 24.3 a
FYC	100 ± 18.7	247 ± 10.8	322 ± 11.2 a
FPCD	104 ± 18.7	248 ± 10.8	324 ± 6.0 a

¹ Letras minúsculas diferentes en una misma columna indican diferencias estadísticas entre tratamientos ($p < 0.05$)

² Suplementos formulados con grano de maíz (FMZ), grano de sorgo (FSG), harina de yuca (FYC) y Pulpa cítrica deshidratada (FPCD)

La producción de CH₄ para los tratamientos evaluados sólo mostró diferencias a las 24 horas de incubación *in vitro* ($p < 0.05$) (Tabla 4). En promedio la producción de CH₄ en el tratamiento FMZ fue 23% menor a la registrada en los tratamientos FSG, FYC y FPCD ($p < 0.05$).

Tabla 4. Efecto de la sustitución del maíz por fuentes alternativas de energía (pulpa cítrica, sorgo y yuca) en dietas para rumiantes sobre la producción de metano *in vitro* (ml/g de materia seca degradada)

Tratamientos ¹	Tiempo de Incubación, h		
	6	12	24
FMZ ²	9.0 ± 1.8	24.7 ± 1.8	33.3 ± 1.4 b
FSG	7.9 ± 0.7	23.6 ± 2.8	42.3 ± 6.0 a
FYC	8.5 ± 1.0	27.2 ± 0.8	45.0 ± 3.1 a
FPCD	8.0 ± 1.1	24.8 ± 1.0	42.2 ± 2.6 a

¹ Letras minúsculas diferentes en una misma columna indican diferencias estadísticas entre tratamientos ($p < 0.05$)

² Suplementos formulados con grano de maíz (FMZ), grano de sorgo (FSG), harina de yuca (FYC) y Pulpa cítrica deshidratada (FPCD)

La pérdida de energía bruta en calorías (cal) por producción CH₄ se muestra en la Tabla 5. No se evidenció diferencia estadística entre tratamientos ($p > 0.05$) en los dos primeros horarios de incubación. Se registró diferencia estadística ($p < 0.05$) en el horario 24 horas con un menor valor para el tratamiento FMZ con respecto a los otros tratamientos.

Tabla 5. Efecto de la sustitución del maíz por fuentes alternativas de energía (pulpa cítrica, sorgo y yuca) en dietas para rumiantes sobre pérdidas de energía bruta (Cal) por producción de metano *in vitro*

Tratamientos ¹	Tiempo de Incubación, h		
	6	12	24
FMZ ²	18.7 ± 3.1	75.6 ± 1.8	157 ± 9.0 b
FSG	15.3 ± 0.6	68.4 ± 3.5	190 ± 18.9 a
FYC	18.5 ± 2.1	82.2 ± 3.2	203 ± 14.1 a
FPCD	16.9 ± 2.4	69.3 ± 7.5	189 ± 12.4 a

¹ Letras minúsculas diferentes en una misma columna indican diferencias estadísticas entre tratamientos ($p < 0.05$)

² Suplementos formulados con grano de maíz (FMZ), grano de sorgo (FSG), harina de yuca (FYC) y pulpa cítrica deshidratada (FPCD)

Los valores de pH del ambiente de fermentación no presentaron variación entre tratamientos durante el proceso fermentativo ($p>0.05$). Los valores registrados siempre fueron superiores a 7, indicando el gran poder tamponante del medio de cultivo.

Tabla 6. Efecto de la sustitución del maíz por fuentes alternativas de energía (pulpa cítrica, sorgo y yuca) en dietas para rumiantes sobre el pH durante el proceso de fermentación *in vitro*

Tratamientos ¹	Tiempo de Incubación, h		
	6	12	24
FMZ ²	7.6 ± 0.1	7.5 ± 0.1	7.3 ± 0.1
FSG	7.5 ± 0.1	7.4 ± 0.1	7.4 ± 0.1
FYC	7.5 ± 0.1	7.4 ± 0.2	7.3 ± 0.1
FPCD	7.5 ± 0.1	7.4 ± 0.1	7.3 ± 0.1

¹ Letras minúsculas diferentes en una misma columna indican diferencias estadísticas entre tratamientos $p<0.05$

² Suplementos formulados con grano de maíz (FMZ), grano de sorgo (FSG), harina de yuca (FYC) y pulpa cítrica deshidratada (FPCD)

La producción de ácidos grasos volátiles en mmol/L es presentada en la Tabla 7. En los tres horarios de incubación la producción de ácido acético y butírico no mostró diferencias significativas entre tratamientos; para el propiónico la mayor producción ($p<0.05$) fue para el tratamiento FY. La relación acetato : propionato (A:P) fue significativamente menor para los tratamientos FMZ y FYC indicando que en estos tratamientos se produjeron un menor número de moles de ácido acético por mol de ácido propiónico.

Tabla 7. Efecto de la sustitución del maíz por fuentes alternativas de energía (pulpa cítrica, sorgo y yuca) en dietas para rumiantes sobre la producción de ácidos grasos volátiles (mmol/L) *in vitro*

Ácido graso	Tiempo (Horas)	Tratamiento ¹			
		FMZ ²	FSG	FY	FPCD
Acético (A)	6	81.5 ± 23.1	60.3 ± 0.2	90 ± 18.5	61.4 ± 9.4
	12	70.7 ± 8.2	74.6 ± 10.1	66.5 ± 16.4	67.2 ± 8.6
	24	99.2 ± 36.5	112 ± 31.3	103 ± 17.3	96.2 ± 9.0
Propiónico (P)	6	10.0 ± 0.9	9.1 ± 0.1	11.9 ± 0.1	6.7 ± 0
	12	12.4 ± 1.7	14.2 ± 4.2	14.3 ± 1.3	11.5 ± 2.7
	24	34.0 ± 16.4 ab	23.0 ± 11.3 a	44.3 ± 18.1 b	21.0 ± 7.8 a
Butírico (B)	6	9.4 ± 1.8	8.7 ± 1.6	8.2 ± 0.4	7.9 ± 0.9
	12	8.2 ± 0.4	8.6 ± 0.4	7.8 ± 1.3	8 ± 0.4
	24	10.3 ± 3.4	9.1 ± 2.4	12.0 ± 3.1	10.4 ± 1.2
Relación A:P	24	2.9 ± 1.2 b	4.9 ± 1.9 a	2.3 ± 1.1 b	4.6 ± 2.2 a
Total de AGV	24	143.5	144.1	159.3	127.6

¹ Letras minúsculas diferentes en una misma columna indican diferencias estadísticas entre tratamientos ($p<0.05$)

² Suplementos formulados con grano de maíz (FMZ), grano de sorgo (FSG), harina de yuca (FYC) y Pulpa cítrica deshidratada (FPCD)

Discusión

La degradabilidad de la MS fue equivalente entre los tratamientos que incluyeron los suplementos con maíz, sorgo y yuca. Las semejanzas en los porcentajes de degradación pueden ser atribuidos a que estas dietas presentaron contenidos similares de almidón (entre 31.8 y 25.6% de la MS), amilosa (entre 5.1 y 6,6 % de la MS), amilopectina (entre 20.5 y 26.3% de la MS) y FDA (entre 8.4 y 9% de la MS). Por su parte el tratamiento con pulpa cítrica presentó los menores contenidos de almidón (21.2%

de la MS) y mayores proporciones de FDA (12.6% de la MS), hecho que habría repercutido sobre la digestibilidad de este tratamiento. Al igual que en este experimento, Leiva et al (2000) evaluando el desempeño de vacas lecheras suplementadas con pulpa cítrica o maíz encontró diferencias significativas en la digestibilidad *in vitro* de la materia orgánica a favor del suplemento con maíz. Las diferencias en digestibilidad fueron atribuidas a los valores constantes de pH durante el proceso de fermentación; debido a que las pectinas y el FDN presentes en la pulpa cítrica fueron más sensibles a bajos pH que el almidón presente en el maíz (Strobel y Russell 1986).

Por otra parte, la diferencia observada en la degradación de la MS puede atribuirse al tipo de carbohidratos presentes en las materias primas. Los cereales, raíces y tubérculos se caracterizan por presentar más de 70% de almidón, de un 6 a un 10% de carbohidratos fibrosos solubles en detergente neutro (CFSDN) y entre un 0 a un 5% de azúcares; entretanto las pulpas cítricas pueden contener de un 12 a un 40% de azúcares, 25 a 44% de CFSDN y 2% o menos de almidón en base seca (Leiva et al 2000).

Diferentes trabajos (Holzer et al 1997; Correa 2010) reportan digestibilidades mayores para la yuca que para el maíz. Este comportamiento se explica por el hecho de que el almidón de la yuca presenta una mayor fracción soluble de almidones, mayor contenido de CNE, donde la ubicación de amilopectina se encuentra únicamente en la región cristalina y la amilosa situada sólo en la región amorfa, lo que le proporciona una mayor capacidad de expansión y menor formación de complejos amilosa-lípido, comparada con el maíz (Caldas Neto et al 2000; Zeoula y Caldas 2001; Wanapat 2003).

La degradación de la MS del tratamiento FSG fue estadísticamente igual a la de los demás tratamientos (Tabla 2). El grano de sorgo empleado en este experimento tenía una concentración de 2.74% de taninos condensados (TC), valor que se encontraba en el rango sugerido de TC (2-4% MS) donde no se deprime ni la digestión ni el desempeño productivo animal (Montossi et al 1997) y fue sometido a un proceso térmico, mejorando la degradación del almidón (Theurer 1986; Oliveiera et al 1993; Bach 2002; Richards y Hicks 2007). Owens (2005) encontró que la degradabilidad ruminal del maíz y el sorgo hojuelados o peletizados fue muy similar entre sí, con valores del 84.2 y 84.9% del almidón consumido. Makkar y Becker (1996) indicaron que bajo condiciones alcalinas los taninos pierden su capacidad de unirse a las proteínas, por consiguiente bajo estas condiciones se produce una transformación de los taninos que conduce a su inactivación, reflejada en un aumento de la digestibilidad *in vitro* de la materia seca.

La degradación de las pectinas por parte de los microorganismos ruminales no parece verse afectada por la lignificación de plantas, como ocurre con otros carbohidratos estructurales; Esto se observó en la degradación del tratamiento FPCD, que a pesar de tener el mayor contenido de fibra cruda, FDA y lignina (7.7%, 12.6% y 3.6%, respectivamente), tuvo una degradabilidad similar a FSG y FY, pero inferior a la dieta FMZ, esto lo corroboran Leiva et al (2000), quienes encontraron que la digestibilidad *in vitro* de la materia orgánica de una dieta totalmente mezclada (TMR) fue ligeramente superior para la dieta de la harina de maíz frente a la dieta de PCD. Por el contrario Miron et al (2002), concluyeron que la sustitución parcial de la dieta de maíz por PCD en TMR de vacas lecheras de alta producción crea condiciones favorables para celulólisis en el rumen y mejora la eficiencia de la alimentación, debido a la mayor digestibilidad total de carbohidratos solubles (77.1 y 72.5 %), en una

dieta con 21% de pulpa de cítricos y el 9% de grano de maíz frente a una dieta con 20% de granos de maíz y 10% de PCD, respectivamente.

Las menores producciones de gas y CH_4 (Tablas 3 y 4) registradas para el tratamiento FMZ en comparación a los restantes tratamientos indican que proporcionalmente una mayor cantidad de la materia seca degradada en este tratamiento fue incorporada a la biomasa microbiana de acuerdo a lo sugerido por Makkar (2010). Los datos de la Tabla 5 confirman este hecho donde las pérdidas de energía bruta asociadas a la producción de CH_4 fueron significativamente menores para el tratamiento FMZ. Por otra parte, Noguera et al (2006), afirman que la densidad energética de la ración favorece el crecimiento microbiano y la rápida colonización del sustrato, sustratos con igual degradación de la materia seca pueden producir diferentes volúmenes de gas y esto se asocia con las pérdidas energéticas que ocasiona el CH_4 . Una mayor inclusión de almidón en la dieta de ganado lechero y un aumento en la tasa de fermentación de almidón, reducen la producción de CH_4 por unidad de materia orgánica fermentable (Hatew et al 2015).

La mayor cantidad de AGV producidos fue registrada en el tratamiento FY, lo que sugiere una mayor actividad fermentativa en este tratamiento (Tabla 7). La proporción de AGV y las subsecuentes pérdidas de carbono en forma de gases son determinadas por el tipo de poblaciones microbianas, la composición de la dieta y en mayor medida por la naturaleza de los carbohidratos y sus tasas de degradación (Nozière et al 2010). Los gránulos de almidón de la yuca presentan una mayor proporción de amilopectina que los cereales, esta característica le confiere a la yuca una más rápida y extensa degradación a nivel ruminal (Zeoula y Caldas 2001).

La producción de acetato y propionato entre los tratamientos FMZ, FSG y FPCD no tuvo diferencias, esto coincide con lo encontrado por Oliveira et al (1993), quienes no encontraron diferencias en la producción de acetato y propionato para el maíz y el sorgo molido, aunque el maíz presentó un valor mayor; lo anterior concuerda con lo encontrado en este experimento en el tratamiento FMZ. Con respecto a la pulpa cítrica, Broderick et al (2002), hallaron también una producción de propionato ruminal más alta en dietas con un 38% de inclusión de maíz sin pulpa cítrica, frente a dietas con una inclusión de 19% de maíz y 19% de pulpa cítrica.

Conclusiones

- El tipo de carbohidrato presente en el suplemento tuvo efecto sobre la degradación de la materia seca y la producción de CH_4 *in vitro*.
- Las dietas que contenían suplementos formulados con granos de cereales presentaron degradaciones de la materia seca equivalentes; la dieta con pulpa cítrica presentó la menor degradación.
- Una reducción del 23% en las emisiones de CH_4 fue alcanzada en el tratamiento que incluyó como principal fuente de carbohidratos al maíz.

Agradecimientos

Los autores agradecen a la Universidad de Antioquia – UdeA a través de la estrategia de sostenibilidad (2016 -2017) y al Departamento de Ciencia, Tecnología e Innovación COLCIENCIAS por el apoyo para el desarrollo de esta investigación a través del proyecto “Evaluación *in vitro* e *in vivo* de diversas estrategias nutricionales para mitigar las emisiones de metano y su impacto productivo, reproductivo y económico en ganadería de leche especializada en el norte de Antioquia” (Código 1115+569-33874).

Referencias

- AOAC (Association of Official Analytical Chemist International) 1990** Official Methods of Analysis, 15th ed. AOAC, Arlington, VA, USA.
- Arthington J D, Kunkle W E and Martin A M 2002** Citrus pulp for cattle. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*. 18: 317-326.
- Bach A 2002** Trastornos ruminales en el vacuno lechero: un enfoque práctico. In: curso de especialización. 18: 119-139.
http://produccionbovina.com.ar/informacion_tecnica/manejo_del_alimento/103-trastornos_ruminales_lechero.pdf
- Bampidis V A and Robinson P H 2006** Citrus by-products as ruminant feeds: A review. *Animal Feed Science and Technology*. 128: 175-217.
<http://kenanaonline.com/files/0028/28692/Citrus%20by-products%20as%20ruminant%20feeds.pdf>
- Beauchemin K A, Kreuzer M, O'mara F and McAllister T A 2008** Nutritional management for enteric methane abatement: a review. *Animal Production Science*. 48: 21-27.
https://www.researchgate.net/publication/248892137_Nutritional_management_for_enteric_methane_abatement_A_review
- Bonilla Cárdenas J A y Lemus Flores C 2012** Emisión de metano entérico por rumiantes y su contribución al calentamiento global y al cambio climático. Revisión. *Revista Mexicana de Ciencias Pecuarias*. 3: 215-246.
http://www.scielo.org.mx/scielo.php?pid=S2007-11242012000200006&script=sci_arttext&tlng=pt
- Broderick G A, Mertens D R and Simons R 2002** Efficacy of carbohydrate sources for milk production by cows fed diets based on alfalfa silage. *Journal of dairy science*. 85: 1767-1776.
[http://www.journalofdairyscience.org/article/S0022-0302\(02\)74251-3/pdf](http://www.journalofdairyscience.org/article/S0022-0302(02)74251-3/pdf)
- Caldas Neto S F, Zeoula L M and Branco A F 2000** Mandioca e resíduos das farinhas na alimentação de ruminantes: Digestibilidade total e parcial. *Revista Brasileira de Zootecnia*. 29: 2099-2108.
<http://www.sbz.org.br/revista/artigos/2873.pdf>
- Cardona M G y Ayala S A 2004** Protocolos para el laboratorio de Nutrición Animal. Medellín: Universidad de Antioquia.
- Correa H J, Rodríguez Y G and Jaimes L J 2010** Incubación posruminal de bolsas móviles de nylon mediante una sonda de incubación abomasal. *Livestock Research for Rural Development*, Volume 22, Article # 157. <http://www.lrrd.org/lrrd22/8/corr22157.htm>
- Hatew B, Podesta S C, Van Laar H, Pellikaan W F, Ellis J L, Dijkstra J and Bannink A 2015** Effects of dietary starch content and rate of fermentation on methane production in lactating dairy cows. *Journal of dairy science*. 98: 486-499. [http://www.journalofdairyscience.org/article/S0022-0302\(14\)00743-7/pdf](http://www.journalofdairyscience.org/article/S0022-0302(14)00743-7/pdf)
- Hatfield R D and Weimer P J 1995** Degradation characteristics of isolated and in situ cell wall lucerne pectic polysaccharides by mixed ruminal microbes. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 69: 185-196.
<http://naldc.nal.usda.gov/download/26426/PDF>
- Herrera - Saldana R E, Hubber J T and Poore M H 1990** Dry matter, crude protein and starch degradability of five cereal grains. *Journal of Dairy Science*. 73: 2386-2393.
[http://www.journalofdairyscience.org/article/S0022-0302\(90\)78922-9/pdf](http://www.journalofdairyscience.org/article/S0022-0302(90)78922-9/pdf)
- Holzer Z, Aharoni Y, Lubimov V and Brosh A 1997** The feasibility of replacement of grain by tapioca in diets for growing-fattening cattle. *Animal Feed Science and Technology*. 64: 133-141.

IPCC 2007 Informe del Grupo Intergubernamental de Expertos sobre el cambio climático. Informe de síntesis.

Johnson K A and Johnson D E 1995 Methane emissions from cattle. Journal of animal science. 73: 2483-2492. <https://www.animalsciencepublications.org/publications/jas/articles/73/8/2483>

Keller J 1984 Pectin. In: Gum and starch technology. 18th Annual Symposium. Special report 53.

Lashkari S and Taghizadeh A 2015 Digestion kinetics of carbohydrate fractions of citrus by-products. Veterinary Research Forum. 6: 41-48. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4405684/>

Leiva E, Hall M B and Van Horn H H 2000 Performance of dairy cattle fed citrus pulp or corn products as sources of neutral detergent-soluble carbohydrates. Journal of Dairy Science. 83: 2866-2875. [http://www.journalofdairyscience.org/article/S0022-0302\(00\)75187-3/pdf](http://www.journalofdairyscience.org/article/S0022-0302(00)75187-3/pdf)

López S and Newbold C J 2007 Analysis of Methane. Chapter 1 in: Measuring Methane Production from Ruminants. Editors Makkar H P, Vercoe P E. Dordrecht, The Netherlands:: Springer.

Makkar H P S and Becker K 1996 Effect of pH, temperature, and time on inactivation of tannins and possible implications in detannification studies. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 44: 1291-1295.

Makkar H P S 2010 *In vitro* screening of feed resources for efficiency of microbial protein synthesis. *In vitro* screening of plant resources for extra-nutritional attributes in ruminants: nuclear and related methodologies. Springer Netherlands, pp 107-144.

McDougall E I 1948 Studies on ruminant saliva. 1. The composition and output of sheep's saliva. Biochemical Journal. 43, pp 99. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1274641/pdf/biochemj00946-0114.pdf>

Miron J, Yosef E, Ben-Ghedalia D, Chase L E, Bauman D E and Solomon R 2002 Digestibility by dairy cows of monosaccharide constituents in total mixed rations containing citrus pulp. Journal of dairy science, 85: 89-94. [http://www.journalofdairyscience.org/article/S0022-0302\(02\)74056-3/pdf](http://www.journalofdairyscience.org/article/S0022-0302(02)74056-3/pdf)

Montossi F, Liu F, Hodgson J and Morris S T 1997 Influence of low-level condensed tannins concentrations in temperate forages on sheep performance. In Proceedings of the XVII International Grassland Congress Session. 8: 1-2. <http://www.internationalgrasslands.org/files/igc/publications/1997/1-08-001.pdf>

Moss A R, Jouany J P and Newbold J 2000 Methane production by ruminants: its contribution to global warming. In Annales de zootechnie. 49: 231-253. <http://www.bashaar.org.il/files/125122005103109.pdf>

Noguera R R, Ramírez I C y Bolivar D M 2006 Efecto de la inclusión de papa (*Solanum tuberosum*) en la cinética de fermentación *in vitro* del pasto kikuyo (*Pennisetum clandestinum*). Livestock Research for Rural Development. Volume 18, Article #62. <http://www.lrrd.org/lrrd18/5/nogu18062.htm>

Norma Técnica Colombiana NTC 302 1998 Productos químicos agrícolas. Método de ensayo para determinar el contenido de calcio total.

Norma Técnica Colombiana NTC 602 1999 Granos y cereales. Sorgo granífero para consumo animal.

Norma Técnica Colombiana NTC 4888 2000 Alimentos para animales. Determinación del contenido de humedad y materia volátil.

Norma Técnica Colombiana NTC 4981 2001 Alimentos para animales. Determinación del contenido de fósforo. Método espectrofotométrico.

Norma Técnica Colombiana NTC 5122 2002 Alimentos para animales. Determinación del contenido de fibra cruda. Método con filtrado intermedio.

Noziere P, Ortigues-Marty I, Loncke C and Sauvant D 2010 Carbohydrate quantitative digestion and absorption in ruminants: from feed starch and fibre to nutrients available for tissues. Animal. 4: 1057-1074. http://journals.cambridge.org/download.php?file=%2FANM%2FANM4_07%2FS1751731110000844a.pdf&code=156323d3527ee60b1d84a553e6b92ef1

Oliveira J S, Huber J T, Ben-Ghedalia D, Swingle R S, Theurer C B and Pessaraki M 1993 Influence of Sorghum Grain Processing on Performance of Lactating Dairy Cows. Journal of Dairy Science. 76: 575-581. [http://www.journalofdairyscience.org/article/S0022-0302\(93\)77377-4/pdf](http://www.journalofdairyscience.org/article/S0022-0302(93)77377-4/pdf)

Owens F N 2005 Impact of grain processing and quality on Holstein steer performance. In: Managing and marketing quality Holstein steers. Managing and marketing quality Holstein steers. Rochester (MN): University of Minnesota, pp 121-40. http://www.extension.iastate.edu/dairyteam/sites/www.extension.iastate.edu/files/dairyteam/ImpactOfGrainProcessing_Owens.pdf

- Posada Ochoa S L, Rosero Noguera J R and Bolivar Vergara D M 2006** Relación entre presión y volumen para la implementación de la técnica *in vitro* de producción de gases en Medellín, Colombia. En: Revista Colombiana De Ciencias Pecuarias. 19: 407-414. <http://www.scielo.org.co/pdf/rccp/v19n4/v19n4a06>
- Richards C J and Hicks B 2007** Processing of corn and sorghum for feedlot cattle. Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice. 23: 207-221.
- Russell J B 1998** The importance of pH in the regulation of ruminal acetate to propionate ratio and methane production *in vitro*. Journal of Dairy Science. 81: 3222-3230. [http://www.journalofdairyscience.org/article/S0022-0302\(98\)75886-2/pdf](http://www.journalofdairyscience.org/article/S0022-0302(98)75886-2/pdf)
- SAS Institute 2001** SAS/STAT: Guide for personal computer. Versión 8.2. SAS Institute, Cary, NY, USA.
- Schalch F J, Schalch E, Zanetti M A and Brisola M L 2001** Substituição do Milho em Grão Moído pela Polpa Cítrica na Desmama Precoce de Bezerros Leiteiros. Revista Brasileira de Zootecnia. 30: 280-285. http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S1516-35982001000100039&script=sci_arttext&tlng=pt
- Strobel H J and Russell J B 1986** Effect of pH and energy spilling on bacterial protein synthesis by carbohydrate-limited cultures of mixed rumen bacteria. Journal of Dairy Science. 69:2941–2947. [http://www.journalofdairyscience.org/article/S0022-0302\(86\)80750-0/pdf](http://www.journalofdairyscience.org/article/S0022-0302(86)80750-0/pdf)
- Theodorou M K, Williams B A, Dhanoa M S, McAllan A B and France J 1994** A simple gas production method using a pressure transducer to determine the fermentation kinetics of ruminant feeds. Animal Feed Science and Technology. 48: 185-197.
- Theurer C B 1986** Grain processing effects on starch utilization by ruminants. Journal of Animal Science. 63: 1649-1662.
- Theurer C B, Lozano O, Alio A, Delgado-Elorduy A, Sadik M, Huber J T and Zinn R A 1999** Steam-processed corn and sorghum grain flaked to different densities alter ruminal, small intestinal and total tract digestibility of starch by steers. Journal of animal science. 77: 2824-2831. <https://www.animalsciencepublications.org/publications/jas/articles/77/10/2824>
- Van Soest P J, Robertson J B and Lewis B A 1991** Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and non-starchpolysaccharides (NSP) in relation to animal nutrition. Journal of Dairy Science. 74: 3583-3597. [http://www.journalofdairyscience.org/article/S0022-0302\(91\)78551-2/pdf](http://www.journalofdairyscience.org/article/S0022-0302(91)78551-2/pdf)
- Wanapat M 2003** Manipulation of cassava cultivation and utilization to improve protein to energy biomass for livestock feeding in the tropics. Asian- Australasian Journal of Animal Science. 16: 463-472. http://ajas.info/upload/pdf/16_70.pdf
- Zeoula L M and Caldas Neto S F 2001** Recentes avanços em amido na nutrição de vacas leiteiras. In: Simpósio Internacional En Bovinocultura de Leche, 2. Universidade Federal de Lavras, pp.249-284.

Received 4 March 2016; Accepted 1 September 2016; Published 1 October 2016