

## EFFECTO DE LA ADICIÓN DE ORUJO DE UVA DESECADO A UN CONCENTRADO TIPO SOBRE LA PRODUCCIÓN DE GAS *IN VITRO*

<sup>1</sup>Barraso, C., <sup>2</sup>Carracedo, V., <sup>1</sup>López, M<sup>a</sup>.M., <sup>2</sup>Pascual, M.R. y <sup>2</sup>Rodríguez, P.

<sup>1</sup>Centro de Investigaciones Científicas y Tecnológicas de Extremadura, Finca La Orden-Valdesequera, CICYTEX. <sup>2</sup>Facultad de Veterinaria. UNEX.; cbgil93@gmail.com

### INTRODUCCIÓN

El cambio climático ha generado gran preocupación en los últimos años, jugando un papel importante los gases de efecto invernadero (GEI) tales como el CO<sub>2</sub> y el CH<sub>4</sub>, (Stern Review, 2007). Centrándonos en el CH<sub>4</sub> de origen antropogénico, un 25% proviene de fermentaciones entéricas de rumiantes (Peng *et al.*, 2016), debido a la adaptación de su aparato digestivo para fermentar la fibra (McDonald *et al.*, 2010). Benchaar *et al.*, 2001 establecen varias estrategias nutricionales para mitigar la producción de CH<sub>4</sub>, a las cuales, hay que sumar otras, como son la búsqueda de plantas con capacidad metano-inhibidora a nivel ruminal (García-González *et al.*, 2008; Patra, 2016), debido a la presencia de compuestos polifenólicos o taninos.

El sector agrícola tiene gran importancia en Extremadura, generando alta cantidad de subproductos, entre ellos los procedentes de la industria vitivinícola, ricos en polifenoles (Spanghero *et al.*, 2009). El sector ganadero tiene igualmente gran peso, ya que existen importantes cebaderos de terneros y corderos en la región. Por ello, surge la idea del estudio de la cinética de producción de gas de las mezclas fabricadas con un concentrado base (cebada) y la incorporación de un 5% de dos tipos de orujo de uva (tinta y blanca) en un proceso de fermentación *in vitro*, con el fin de comprobar si se afecta la producción de gas, e incorporar estos subproductos en la dieta de rumiantes.

### MATERIAL Y MÉTODOS

Para la determinación de la producción de gas *in vitro* se han utilizado orujos de dos variedades de uva, Graciano (tinta) y Montúa (blanca). Nuestro ensayo se llevó a cabo con mezclas de 95g de cebada molida y 5g de orujo Graciano (G) o 5g de orujo Montúa (M). La composición química de la cebada y orujos se obtuvo siguiendo el método oficial descrito para alimentos destinados a los animales recogidos en el BOE (1995). Mediante el análisis de WEENDE se determinó la Humedad-Materia Seca, Cenizas-Materia Orgánica, Extracto Etéreo, Proteína Bruta, y Fibra bruta (McDonald *et al.*, 2010). La Fibra Neutro Detergente (FND) y Fibra Ácido Detergente (FAD), según Van Soest (1967). Para la técnica de producción de gas, adoptamos la propuesta de Menke *et al.*, (1979) utilizando jeringas de vidrio. Como fuente de inóculo utilizamos heces frescas de ovejas (El Saher *et al.*, 1987). Siguiendo lo publicado por Aghajanzadeh *et al.*, (2015) fabricamos la saliva artificial y el líquido fecal. Para el proceso de fermentación se depositaron 0,2g de cada muestra de estudio y 30 ml de líquido fecal. Se realizaron dos ensayos, uno para cada tipo de mezcla de orujo. En cada uno de ellos, se utilizaron 12 jeringas, 4 sin muestra ("blancos"), 4 con sustrato C y las cuatro restantes, con mezcla de orujo M para el ensayo 1 y mezcla de orujo G para el ensayo 2. Posteriormente se incubaron a 39°C durante 96h, anotando el avance del émbolo a las 0, 2, 4, 6, 8, 10, 12, 24, 48, 72 y 96h, (El-Meadaway *et al.*, 1998; Rasouli y Amiri, 2016). Las curvas de producción de gas se modelizaron siguiendo los modelos propuestos por Orskov y McDonald (1979) (*m1*) y McDonald (1981) (*m2*). El posible efecto de la adición de orujo sobre las características fermentativas de la cebada se ha estudiado mediante un análisis de la varianza de un factor y una prueba de Tukey *a posteriori* para establecer las diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) con el programa SPSS. La modelización de la cinética, se ajustó mediante programación Solver, en Excel, maximizando el coeficiente de determinación ( $R^2$ ).

### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la tabla 1, podemos observar la composición química de las muestras ensayadas. En su conjunto, los productos bases (cebada y orujos) presentan una composición química dentro de su categoría (Bernal, 2016) y las mezclas heredan la composición correspondiente.

**Tabla 1.** Composición química (% sobre materia fresca) de la cebada (C), los orujos de dos variedades de uva: Graciano (OR.G) y Montúa (OR.M) y las mezclas (G, M) (media  $\pm$  desviación típica).

md $\pm$ d.t	C	OR. G	OR. M	G	M
<b>MAT.SECA</b>	90,77 $\pm$ 0,53	98,66 $\pm$ 0,12	98,57 $\pm$ 0,04	91,12 $\pm$ 0,00	90,97 $\pm$ 0,37
<b>CENIZAS</b>	2,38 $\pm$ 0,64	6,84 $\pm$ 0,91	5,85 $\pm$ 5,85	2,38 $\pm$ 0,64	2,41 $\pm$ 0,60
<b>P.B</b>	8,54 $\pm$ 0,33	9,38 $\pm$ 0,63	13,67 $\pm$ 0,38	13,056 $\pm$ 0,52	13,54 $\pm$ 0,21
<b>E.E</b>	1,97 $\pm$ 0,03	7,60 0,54	8,60 $\pm$ 0,41	2,48 $\pm$ 0,19	2,52 $\pm$ 0,701
<b>F.B</b>	3,21 $\pm$ 0,17	25,53 $\pm$ 0,00	21,45 $\pm$ 0,74	4,11 $\pm$ 2,04	4,68 $\pm$ 0,67
<b>FND</b>	18,93 $\pm$ 0,17	52,99 $\pm$ 1,22	50,82 $\pm$ 1,17	20,78 $\pm$ 1,11	21,22 $\pm$ 0,38
<b>FAD</b>	5,33 $\pm$ 0,54	46,57 $\pm$ 2,52	47,92 $\pm$ 1,58	7,55 $\pm$ 0,10	6,76 $\pm$ 0,14

md $\pm$ d.t: media  $\pm$  desviación típica. **P.B**: proteína bruta. **E.E**: extracto etéreo. **F.B**: fibra bruta. **FND**: fibra neutro detergente. **FAD**: fibra ácido detergente. **G**: mezcla al 5% de orujo variedad Graciano. **M**: mezcla al 5% de orujo variedad Montúa.

La tabla 2, muestra la cinética de producción real de gases para los concentrados ensayados C, G y M. Hasta las 12h, la producción de gas es superior en C, lo que implica que los taninos inhiben la producción de gas. Gemeda *et al.*, (2015) indican que la presencia de taninos afecta a la producción de ácidos grasos volátiles *in vitro*, aunque no encuentra correlación entre el nivel de taninos y el efecto inhibitor. Sofyan *et al.*, (2017) indican que la presencia de taninos afecta a la producción total de gas, disminuyéndola, aunque no encuentran diferencias en la producción de CH<sub>4</sub>.

**Tabla 2.** Producción acumulada de gases (cc) a lo largo de 96 horas de incubación.

	2h p<0,05	4h p<0,05	6h n.s	8h p<0,05	10h p<0,01	12h p<0,05	24h n.s	48h n.s	72h n.s	96h n.s
<b>C</b> m	2,03a	7,50a	14,53	21,93a	28,87a	43,31a	57,67	52,90	62,46	63,63
dt	1,54	2,82	4,81	4,18	3,73	10,95	4,28	29,94	4,58	5,82
<b>G</b> m	0,79ab	3,39b	8,82	16,96b	22,73b	29,18b	54,29	60,39	62,09	63,11
dt	0,85	1,18	1,55	1,55	2,12	2,35	1,55	2,69	2,69	2,12
<b>M</b> m	0,00b	4,07ab	10,69	17,05b	23,41b	29,52b	53,44	57,51	60,82	60,95
dt	0,00	1,31	1,86	1,18	1,86	1,86	2,80	3,05	3,62	3,47

**C**: cebada. **G**: mezcla al 5% de orujo variedad Graciano. **M**: mezcla al 5% de orujo variedad Montúa. **m**: media. **dt**: desviación típica. **h**: tiempo de incubación en horas. **n.s**: no existen diferencias estadísticas. **nota**: letras diferentes en las medias de la misma columna indican diferencias estadísticas (p<0,05).

**Tabla 3.** Parámetros (b, c, tl) de los modelos de Orskov y McDonald (1979) (m1) y McDonald (1981) (m2) expresados por su media  $\pm$  desviación típica.

	m1			m2			
	b n.s	c n.s	R <sup>2</sup>	b n.s	c n.s	tl n.s	R <sup>2</sup>
<b>C</b>	63,21 $\pm$ 3,1	0,0468 $\pm$ 0,005	0,973	60,94 $\pm$ 2,7	0,0702 $\pm$ 0,0044	2,95 $\pm$ 0,27	0,9911
<b>G</b>	66,31 $\pm$ 2,1	0,0454 $\pm$ 0,002	0,966	62,39 $\pm$ 2,0	0,0671 $\pm$ 0,0015	3,02 $\pm$ 0,21	0,9845
<b>M</b>	62,86 $\pm$ 2,9	0,0491 $\pm$ 0,002	0,963	60,85 $\pm$ 2,9	0,0726 $\pm$ 0,0027	2,79 $\pm$ 0,14	0,9848

**C**: cebada. **G**: mezcla al 5% de orujo variedad Graciano. **M**: mezcla al 5% de orujo variedad Montúa. **b**: producción potencial de gas. **c**: constante degradación del sustrato. **tl**: tiempo de retraso de inicio de fermentación. **n.s**: no existen diferencias estadísticas.

En la tabla 3 se recogen los valores de los modelos m1 [ $P = a + b(1 - e^{-ct})$ ] y m2 [ $P = a + b(1 - e^{-c(t-tl)})$ ]. En ambos modelos, el parámetro "a" (intersección de la curva de producción de gas al tiempo 0), tiene valor 0, lo cual, es coherente, ya que a las 2h apenas observamos producción de gas. Akinfemi *et al.*, (2009), Boga *et al.*, (2014) o Juárez *et al.*, (2009) también

obtuvieron valor 0 o incluso negativo para “a”. En cuanto al parámetro “b” (producción potencial de gas), el  $m1$  no refleja la producción final real de gas, siendo el  $m2$  la que se acerca más a los valores reales; estos valores se encuentran por encima de 60, siendo superiores a los indicados para forrajes (Akinfemi *et al.*, 2009; Boga *et al.*, 2014) y en línea de los indicados para concentrados. Respecto al parámetro “c” (constante de degradación asociada al sustrato), un mayor valor, implica una mayor degradabilidad intrínseca. No existen diferencias estadísticamente significativas para C, M y G, El  $m1$  muestra valores cercanos a 0,047 y el  $m2$  0,070, El parámetro “t<sub>i</sub>” asociado al tiempo de retardo en el inicio de la fermentación, tampoco presenta diferencias entre los concentrados utilizados, siendo su valor medio 2,9 horas, necesarias para que el proceso de producción de gases arranque, corroborándolo con la cinética real observada. El mejor R<sup>2</sup> se obtuvo en  $m2$ . En conjunto, cabe destacar que el modelo de McDonald (1981) se ajusta mejor a la situación real, pero, ninguno de ellos, han detectado las diferencias existentes hasta las 12 horas en la cinética de producción de gas (Tabla 2), lo que demuestra su insuficiencia, para matizar adecuadamente las diferencias iniciales existentes en la fermentación.

### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

●Aghajanzadeh, A. *et al.*, 2015. Iranian J of Applied Anim Sci, 5(2): 339-345●Akinfemi, A. *et al* 2009. American-Eurasian J of Scientific Resear 4 (4): 240-245●Benchaar, C. *et al* 2001. Canadian J of Anim Sci 81(4): 563-574●Bernal, C. 2017. TFG.Fac Vet UNEX●BOE 1995.RD 2257/1994.●Boga, M. *et al* 2014 Asian Australasian J of Anim Sci, 27(6): 825-831●El Shaer, H.M 1987. J Agricul Sci. Cabri.109: 257-259●El-Meadaway, A 1998 .Canadian J of Anim Sci. 78(4): 673-679●García-González, R. *et al* 2008. Anim Feed Sci and Tech, 147: 36-52●Gameda, B.S *et al* 2015. Asian Australasian J of Anim Sci, 28(2): 188-199●McDonald, I. 1981. J of Agricultural Sci, 96(1): 251-252 McDonald, P 2010 Animal Nut (7th Ed.)●Menke, K.H. *et al* 1979. J of Agri Sci Cambrigde, 93: 217-222 Ørskov, E.R. *et al* 1979. J of Agri Sci Cambridge 92: 499-503●Patra, A.K. 2016.Frontiers in Vet Sci, 3: 1-17●Peng, S. 2016. Atmospheric Chemis and Physics, 16: 14545- 14562.●Rasouli, B. 2016. Environ Resources Research, 4(2): 141-152● Spanghero, M. 2009. Anim Feed Sci Tech 152:243–255● Sofyan, A. 2017. J of Applied Anim Reseach, 45(1): 122-125. )●Stern Review. 2007. Foreign & Commonwealth Off.U.K. .●Van Soest, P.J. 1967. J of Anim Sci, 26(1): 119-128.

**Agradecimientos:** trabajo financiado por el proyecto “Disminución de la huella de metano por inclusión de polifenoles vitivinícolas en la alimentación de rumiantes. Monitorización de su efecto en el bienestar de los animales durante el cebo de terneros” (RUMIMETA) AA-16-0082-2-

### EFFECT OF THE ADDITION OF DRIED GRAPE MARC ON THE FERMENTATIVE CHARACTERISTIC OF A CONCENTRATED STANDARD

**ABSTRAC:** The aim of this study was to determine the effect of the addiction of 5% of grape marc rich in tannins (Graciano and Montúa varieties) in a standard concentrate based on barley on *in vitro* gas production. The *in vitro* fermentation was carried out in glass syringes, the source of inoculum was fresh faeces from sheep and the substrate was the mixtures of barley and grape marcs. The kinetics of gas production was studied according the models suggested by Orskov y Mcdonald (1979) y McDonald (1981). The results show that the addition of grape marc reduces the gas production, but the models do not detect differences until 12h of fermentation.

**Keywords:** *in vitro* fermentation, gas production, tannins.