

EVALUACIÓN DE DISTINTOS TIPOS DE ENSILADO DE ORUJO DE UVA MEDIANTE LA TÉCNICA DE PRODUCCIÓN DE GAS *IN VITRO*

¹Barraso, C., ²Hernandez, T., ¹López, M^a.M., ²Chaso, M.A. y ²Rodríguez, P.

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

INTRODUCCIÓN

Los gases de efecto invernadero: CO₂, CH₄, NO₂ se han incrementado en las últimas décadas debido a las distintas actividades del hombre, entre ellas, la agricultura. Dicha labor, genera un 10% de las emisiones totales (CONAMA 2014). Dentro de este porcentaje, un tercio corresponde al CH₄ procedente de la fermentación entérica, principalmente de ovino y vacuno, debido a su elevado censo (Gerber *et al.*, 2013). Este ganado libera más CH₄ en la etapa de mayor consumo de alimento, debido a la adaptación de su aparato digestivo para fermentar la fibra (McDonald *et al.*, 2010). Son varias las estrategias posibles para la mitigación de CH₄ a nivel entérico. Desde el punto de vista de la alimentación hay que considerar el importante papel que juegan los compuestos polifenólicos (taninos), capaces de inhibir la producción de CH₄ a nivel ruminal (Carrulla *et al.*, 2005). El orujo de uva, es un subproducto resultante de la elaboración del vino, con alto contenido en taninos (Spanghero *et al.*, 2009). En 2018, España registró una producción de 2.909.731 Tm de uva (MAPAMA). Teniendo en cuenta que el orujo presenta un 13% en peso de uva fresca (Cáceres *et al.*, 2011), podemos estimar que la producción bruta de orujo sería de 378.265 Tm aproximadamente. Debido a esa alta cantidad de subproductos generados ricos en taninos, se plantea como idea determinar la producción de CH₄ de diferentes variedades de ensilado de orujo de uva mediante el proceso de fermentación *in vitro*.

MATERIAL Y MÉTODOS

El estudio de fermentación *in vitro* se ha llevado a cabo sobre cuatro variedades de ensilado de orujo de uva, dos tintas (*Graciano* y *Merlot*), y dos blancas (*Pardilla* y *Montúa*). Las muestras fueron desecadas y molidas. Se analizó el contenido en cenizas, grasa bruta, proteína bruta, fibra bruta, fibra neutro detergente y fibra ácido detergente (BOE, 1995). La producción de gas se determinó según Menke *et al.* (1979), mediante jeringas de vidrio. Como fuente de inóculo se emplearon heces frescas de ovino (El Saher *et al.*, 1987). Se fabricó la saliva artificial y el líquido fecal (mezcla homogénea de saliva artificial y heces frescas), siguiendo lo propuesto por Aghajanzadeh *et al.*, (2015). Se realizaron 4 ensayos (uno para cada variedad de ensilado de orujo), cada uno de ellos compuesto por 12 jeringas con 30ml de líquido fecal, de las cuales, 2 ejercen de "blancos" (sin ningún tipo de sustrato), 2 de "testigo", cuyo sustrato es 0,2g de cebada y las 8 restantes contenían 0,2g de ensilado de orujo de las variedades de estudio. Se incubaron a 39°C durante 96 horas, midiendo el avance del émbolo a las 2, 4, 6, 8, 10, 12, 24, 48, 72, y 96 horas (El-Meadaway *et al.*, 1998; Rasouli, *et al.*, 2016). Las curvas de producción de gas se modelizaron siguiendo el modelo de Mc Donald (1981) [$P = a + b(1 - e^{-c(t-t_0)})$]. Finalmente se midió el porcentaje de CH₄ en el gas producido mediante un detector específico (GMI-PS200). El efecto del sustrato sobre la producción de gas y CH₄ se ha estudiado mediante un análisis de varianza y una prueba de Tukey mediante el programa SPSS. La modelización de la cinética, se ha efectuado mediante programación Solver de Excel, minimizando los errores para los parámetros la ecuación.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La Tabla 1 recoge la composición química de los tipos de ensilados de orujos; aunque bastante heterogéneos, son valores habituales en este subproducto (Bernal, 2017; Abarghwei *et al.* 2010; Bahrami *et al.* 2010; Baumgärtel *et al.* 2007). En la Tabla 2, se indican los valores de la cinética de producción de gas, donde podemos observar que la variedad *Pardilla* es la que mayor cantidad de gas produce en las 12 primeras horas, y a partir de las 24 horas, es la variedad *Merlot* la mayor productora de gas. Nuestros valores a las 72 horas de incubación presentan un promedio de 30 cc de gas, encontrándose dentro de los valores propuestos por Blümmel y Orskov (1993) para pajas de cereal. Dado que los ensilados de orujo de uva presentan una composición química mejor que la de una paja de cereal, cabría

esperar una mayor producción de gas. Por lo tanto, los resultados experimentales, avalan la acción inhibitoria de los taninos sobre la fermentación.

La Tabla 3 recoge los parámetros de la ecuación propuesta por McDonald 1981 [$P = a + b (1 - e^{-c(t-t_l)})$], observándose que los valores de R^2 son muy elevados, lo que indica que el modelo propuesto presenta un ajuste bastante bueno. El tiempo de retraso de inicio de la fermentación (t_l) indicado en la tabla 3, no se corresponde con valores reales, solo sirven para ajustar el modelo numéricamente.

Tabla 1. Composición analítica de los orujos en % sobre materia seca.

med±d.t	CENIZAS	G.B	P.B	F.B	FND	FAD
Graciano	7,65±0,72	8,69±0,38	12,89±0,97	25,90±0,19	53,15±0,06	47,31±0,64
Merlot	8,67±0,72	8,14±0,74	9,79±0,45	25,64±0,55	48,15±3,30	43,36±0,95
Pardilla	4,12±0,0	7,27±0,28	9,62±0,59	30,39±0,45	51,55±0,0	49,96±0,79
Montúa	5,64±0,73	7,97±0,70	11,78±0,13	28,02±0,34	55,99±0,74	53,90±2,22

G.B: grasa bruta. P.B: proteína bruta. F.B: fibra bruta. FND: fibra neutro detergente. FAD: fibra ácido detergente. med±d.t: media ± desviación típica.

Tabla 2. Evolución de la producción de gas en los ensilados experimentales de orujo de uva (cc).

Tiempo incubación (h)	Graciano	Merlot	Pardilla	Montúa
2 (p<0,001)	0,47a±0,11	0,67a±0,16	0,00b±0,00	0,00b±0,00
4 (p<0,001)	1,48a±0,09	1,88a±0,33	5,95b±1,46	2,13a±0,52
6 (p<0,001)	4,65a±0,54	4,88a±0,68	8,02b±0,20	5,73a±0,80
8 (p<0,001)	6,62a±0,90	7,21a±1,43	10,86b±0,31	8,16a±0,53
10 (p<0,001)	8,39a±1,05	9,42a±1,20	13,37b±0,24	9,56a±0,79
12 (p<0,001)	9,30a±1,18	10,37a±1,33	15,71b±0,50	11,15a±0,65
24 (p<0,001)	23,64b±1,21	28,27a±1,82	23,59b±0,96	21,25b±1,62
48 (p<0,01)	29,30ab±2,09	32,83a±3,56	27,54b±1,88	25,63b±1,00
72 (p<0,05)	30,28ab±3,54	33,37a±3,61	28,36a±1,57	25,59b±0,78
96 (p<0,05)	30,37ab±3,51	33,46a±3,58	28,83ab±1,50	27,09±0,79

h: horas. Nota: letras diferentes en la misma fila implica medias estadísticamente distintas.

Tabla 3. Parámetros de la ecuación de modelización propuesta por McDonald (1981) [$P = a + b (1 - e^{-c(t-t_l)})$].

	a	b	c	t_l	R^2
Graciano	4,8495	26,8556	0,0509	6,2119	0,9821
Merlot	6,6610	29,6503	0,0534	6,6749	0,9765
Pardilla	6,6816	21,8941	0,0780	5,1170	0,9956
Montúa	3,9257	23,3690	0,0608	4,9003	0,9951

a: producción de gas a tiempo 0. b: producción potencial de gas. c: constante de degradación del sustrato. t_l : tiempo de retraso de inicio de fermentación.

Tabla 4. Producción de CH_4 en los ensilados experimentales de orujo de uva (% metano/cc gas producido en 96 horas).

	Graciano	Merlot	Pardilla	Montúa	p
Media	0,2414a	0,2556a	0,3385b	0,4065c	<0,001
d,t	0,0351	0,0244	0,0167	0,0269	

d.t: desviación típica.

La producción de metano (tabla 4) muestra diferencias significativas entre las variedades estudiadas, siendo las variedades tintas (*Graciano* y *Merlot*) las menos metanogénicas,

frente a la variedad *Montúa*, que resulta ser la mayor productora de este gas. Por su parte, la variedad *Pardilla* indica una producción intermedia. Autores como Jayanera *et al.*, 2012, concluyen que el incremento de taninos en el alimento disminuye la respuesta inhibitoria de la producción de metano progresivamente (a mayor dosis, menor inhibición proporcional). Las diferencias encontradas en nuestros resultados podrían deberse a la naturaleza de los taninos aportados por cada variedad de uva, a su concentración o incluso a la combinación de ambos efectos.

Como conclusión, podemos determinar que cada variedad de uva presenta una cinética de producción de gas diferente. Las mayores diferencias se observan durante las 12 primeras horas, siendo más degradables los ensilados de orujos de las variedades blancas. Por otro lado, la producción final de metano tras 96 horas de incubación se ve afectada por la variedad de uva, siendo las variedades tintas las que menos cantidad de metano producen.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abarghwei. 2010. *Livestock Sci* 132: 73-79.
- Aghajanzadeh, A. 2015. *Iranian J of Appl Anim Sci* 5(2): 339-345.
- Bahrami, Y. 2010. *J Animal & Plant Sci* 6(1): 605-610.
- Baumgärtel, T. 2007. *Small Rumi Research*, 67: 302-306.
- Bernal, C. 2017. TFG. *Fac Veterinaria UNEX*.
- BOE 1995. RD 2257/1994.
- Blümmel. 1993. *Anim Feed Sci and Tech*, 40: 109-119.
- Cáceres, C.X 2011 HYFUSEN.
- Carulla, J.E. 2005. *Aust J Agri Res* 56(9) 961-970.
- CONAMA (2014).
- 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.
- Gerber, P. J. 2013. FAO.
- Jayanegara, A. 2012. *J of Anim Physiology and Anim Nut*, 93: 365-375.
- MAPAMA
- McDonald, P 2010 *Animal Nut* (7th Ed.).
- McDonald, I. 1981. *J Agricult Sci* 96(1): 251-252.
- Menke, K.H.1979. *J Agricul Sci Cambri*.93(1): 217-222.
- Rasouli, B. 2016. *Environ Resour Research*, 4(2): 141-152.
- Spanghero, M.2009. *Anim Feed Sci Tech*152:243-255.

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.

EVALUATION THE DIFFERENTS TYPE OF SILAGE GRAPE MARC BY TECHNIQUE PRODUCTION GAS *IN VITRO*.

ABSTRACT: The aim of this study was to determine the effect on *in vitro* gas and methane production fermentation of four varieties of grape marcs (red varieties: *Graciano*, *Merlot*. White varieties: *Pardilla*, *Montúa*). The *in vitro* fermentation was carried out in glass syringes. The source of inoculums was fresh faeces from sheeps and the substrates were the varieties of grape marcs. The kinetics of gas production was studied according the model suggested by McDonald (1981) and the methane was determined by specific detector of methane gas. The results obtained indicate that the different varieties of grape marcs have different gas production kinetics, finding the most differences in the first 12 hours. By the other hand, the red varieties produce less methane.

KEYWORDS: grape marcs, gas production, methane production.