

Implementación de la técnica de producción de gas *in vitro* semiautomatizada en Uruguay: predicción del volumen de gas

Britos A.^{1*}, Curbelo A.¹, Pomiés N.¹, Caramelli A.¹, Antúnez M.¹, Cajarville C.¹

¹Departamento de Nutrición Animal, Facultad de Veterinaria, UdelaR. Lasplacas 1550, Montevideo, Uruguay.

Proyecto financiado por PDT 78/12. *alebritos@adinet.com.uy

Resumen

El objetivo del trabajo fue establecer una ecuación de regresión para relacionar presión y volumen de gas específica para las condiciones de la Unidad de Digestión y Metabolismo Ruminal-Facultad de Veterinaria. Se incubaron diferentes alimentos con líquido ruminal en frascos herméticos y se midió simultáneamente la presión y el volumen de gas producido. La ecuación seleccionada fue: $V \text{ (ml)} = 4,40 P + 0,09 P^2$; ($R^2=0,998$; $RSD=0,784$; $P<0,001$).

Introducción

Para predecir la fermentación ruminal de alimentos se han desarrollado diversas técnicas, una de ellas es la producción de gas *in vitro*. La técnica se basa en incubar un alimento con líquido ruminal tamponado en un recipiente hermético y el gas producido es medido como indicador indirecto de la cinética de fermentación.

La técnica semiautomática de Mauricio et al. (1999a) desarrollada en la Universidad de Reading (Reino Unido) mide la presión de los gases acumulados en el interior de los frascos de fermentación mediante un transductor. Esta técnica requiere disponer de una ecuación de predicción que establezca la relación entre presión y volumen.

El objetivo del presente trabajo fue establecer una ecuación de regresión para relacionar presión y volumen de gas específica para las condiciones de la Unidad de Digestión y Metabolismo Ruminal de la Facultad de Veterinaria.

Materiales y Métodos

El ensayo se llevó a cabo entre el 13 y 18 de marzo de 2008 en la Unidad de Digestión y Metabolismo Ruminal del departamento de Nutrición Animal, en el Campo Experimental N° 2 de la Facultad de Veterinaria (34°41'S, 56°32'O; 18 m sobre el nivel del mar).

Se utilizaron como sustratos una colección de 19 alimentos de diferentes tipos (Tabla 1). La incubación se llevó a cabo en frascos de vidrio de 125 ml de capacidad en los cuales se pesó 0,5 g de sustrato. Un día antes de la inoculación se adicionó a los frascos 38 ml de solución basal, 2 ml de solución de bicarbonato y 0,5 ml de solución de sulfuro propuestas por Williams et al. (2005). Inmediatamente los frascos fueron saturados por una corriente de CO₂, tapados con tapón de goma y almacenados a 4°C durante toda la noche. El inóculo (líquido ruminal fresco) procedió de una vaca Holstein de 550 kg de peso vivo, en lactación, provista de una cánula ruminal y alimentada con una pradera mezcla (consumida por pastoreo directo), ensilaje de pradera y 4 kg/d de concentrado.

Se extrajo contenido ruminal de forma manual a través de la cánula y se filtró por 4 capas de paño de quesería, almacenándose el líquido ruminal en un recipiente térmico

precalentado a 39,5°C. Inmediatamente el líquido fue transportado al laboratorio y sometido a un gaseado permanente de CO₂, mientras se inoculó cada uno de los frascos de fermentación. Para la inoculación los frascos con sustrato y medio de cultivo fueron precalentados a 39,5°C en baño María, se les agregó 10 ml de inóculo, saturados con CO₂, nuevamente tapados con tapón de goma y finalmente cerrados herméticamente con precinto de aluminio. Los frascos fueron depositados nuevamente en el baño María, donde permanecieron todo el período de incubación a 39,5°C. Las lecturas de presión y volumen de gas fueron realizadas a las 4, 6, 9, 12, 15, 24, 48, 72 y 96 h luego de la inoculación obteniéndose 523 observaciones. Para realizar la medición simultánea de presión y volumen de gas se confeccionó un dispositivo constituido por un manómetro digital (Cole Parmer Instrument Co.), una jeringa de vidrio graduada lubricada y una aguja hipodérmica de 0,6 mm; todos unidos a cada salida de una llave de tres vías. La aguja fue insertada a través del tapón de goma de los frascos y la presión registrada en el manómetro, luego se extraían los gases del interior del frasco de fermentación mediante la jeringa hasta que el manómetro registraba cero, lo que resultó en la medición del volumen de gas.

Los datos obtenidos fueron utilizados para el establecer ecuaciones de regresión lineales y cuadráticas de volumen de gas producido (ml) en función de la presión en el interior del frasco de fermentación (psi) utilizando PROC REG de SAS[®]. Para cada una de las ecuaciones obtenidas se estudió además la relación entre el volumen predicho y el observado.

Resultados y Discusión

A partir de los datos observados de presión y volumen (figura 1) se obtuvieron una ecuación de predicción lineal y otra cuadrática:

1) $V \text{ (ml)} = 4,77 P$; ($R^2=0,997$; $RSD=0,878$; $P<0,001$)

2) $V \text{ (ml)} = 4,40 P + 0,09 P^2$; ($R^2=0,998$; $RSD=0,784$; $P<0,001$)

donde V es el volumen (ml) observado en la jeringa y P es la presión en el interior del frasco de fermentación registrada en el manómetro y expresada en libras por pulgada cuadrada (psi).

El volumen predicho calculado a partir de ambas ecuaciones y el volumen observado presentó las siguientes relaciones (1: ecuación lineal; 2: ecuación cuadrática):

1) $V \text{ predicho (ml)} = -0,870 + 1,050 V \text{ observado (ml)}$; ($R^2=0,988$; $RSD=0,786$; $P<0,001$)

2) $V \text{ predicho (ml)} = -0,124 + 1,007 V \text{ observado (ml)}$; ($R^2=0,989$; $RSD=0,782$; $P<0,001$)

El criterio de selección de la ecuación más apropiada se



Tabla 1: Contenido en Materia Orgánica (MO), Proteína Bruta (PB) y Fibra Ácido Detergente (FAD) de los alimentos utilizados.

Alimento	MO (%)	PB (%)	FAD (%)
Grano de Avena	96,21	8,76	13,62
Grano de Sorgo	98,41	6,95	8,82
Grano de Arroz	94,65	9,61	14,94
Ensilaje grano húmedo de sorgo alto en taninos	98,20	7,60	5,32
Ensilaje grano húmedo con urea de sorgo alto en taninos	98,62	15,6	9,55
Pulpa de Citrus	93,37	5,20	22,72
Afrechillo de Avena	71,32	9,40	8,19
Cascarilla de soja	95,48	10,25	44,30
Torta de Lino	94,60	33,29	14,74
Harina de Girasol	93,70	21,99	28,66
Barrido de Girasol	89,43	11,28	30,76
Ración para vacas lecheras	95,14	15,94	9,83
Ración para equinos	94,29	12,53	10,86
Ensilaje de maíz planta entera	93,77	8,11	38,43
Ensilaje de maíz planta entera	94,37	5,33	24,52
Forraje de Campo natural	81,83	8,28	29,12
Forraje de Avena	91,43	8,22	25,96
Forraje de Avena	93,01	7,23	25,65
Forraje de Avena	91,61	6,50	31,42

basó en el mayor coeficiente de determinación de Pearson (R^2) y el menor error estándar de la regresión (RSD), por lo tanto la seleccionada fue la ecuación cuadrática. Además la relación de volumen predicho a partir de la ecuación de regresión cuadrática y el volumen observado presentó mayor coeficiente de determinación de Pearson (R^2) y menor error estándar de la regresión (RSD).

La ecuación seleccionada difiere con las obtenidas en otros laboratorios (tabla 2). Esta observación concuerda con Mauricio et al. (1999b) que concluye que la diferencia entre la ecuación desarrollada en Piracicaba (Brasil) con la obtenida previamente en Reading por el mismo autor demostraba un efecto propio de la localización que se debe considerar cuando se usa la presión para predecir volumen con la técnica semiautomatizada.

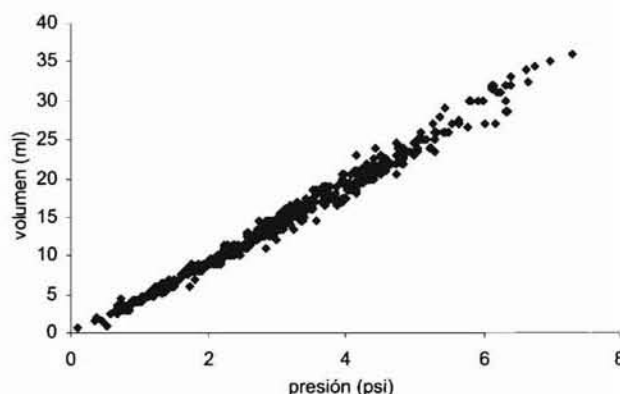


Figura 1: Volumen observado en función de la presión observada

Tabla 2: Ecuaciones de predicción utilizadas en distintos laboratorios

Laboratorio	Ecuación de predicción
Reading, Reino Unido (Mauricio et al., 1999a)	$V(\text{ml})=0,18+3,69P+0,08P^2$ ($R^2=0,99$)
Piracicaba, Brasil (Mauricio et al., 1999b)	$V(\text{ml})=0,56+3,61P+0,18P^2$ ($R^2=0,98$)
Belo Horizonte, Brasil (Mauricio et al., 2003)	$V(\text{ml})=-0,004+4,43P+0,051P^2$ ($R^2=0,99$)
Medellín, Colombia (Posada et al., 2006)	$V(\text{ml})=-0,1833+5,2098P+0,0598P^2$ ($R^2=0,98$)

V: volumen (ml); P: presión en el interior del frasco de fermentación (psi).



Conclusión

Se estableció una ecuación de predicción de volumen para la técnica de producción de gas in vitro semiautomatizada específica para las condiciones de la Unidad de Digestión y Metabolismo Ruminal de la Facultad de Veterinaria. La ecuación fue diferente de las obtenidas en laboratorios de otras localizaciones.

Summary

The objective of this work was to establish a regression equation to relate pressure and gas volume specific to the conditions of the Unidad de Digestión y Metabolismo Ruminal-Facultad de Veterinaria. Different food were incubated with ruminal fluid in hermetic flasks and pressure and volume of produced gas measured simultaneously. The selected equation was: $V \text{ (ml)} = 4,40 P + 0,09 P^2$; ($R^2=0,998$; $RSD=0,784$; $P < 0,001$).

Referencias Bibliográficas

Mauricio R.M., Mould F.L., Dhanoa M.S., Owen E., Channa

K.S., Theodorou M.K. 1999a. A semi-automated in vitro gas production technique for ruminant feedstuff evaluation. *Anim. Feed Sci. Technol.* 79:321-330.

Mauricio R.M., Owen E., Abdalla A.L., Bueno I.C.S., Mould F.L., Gilmour S., Theodorou M.K. 1999b. Comparison of rumen liquor and faeces, in UK and Brazil, as sources of microorganisms for in vitro gas production for assessing twelve forages. *Proceedings of the British Society of Animal Science.* p. 147.

Mauricio R.M., Pereira L.G.R., Gonçalves L.C., Rodriguez N.M. 2003. Relação entre pressão e volume para implantação da técnica in vitro semi-automática de produção de gases na avaliação de forrageiras tropicais. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.* 55(2):216-219.

Posada S.L., Noguera R., Bolívar D. 2006. Relación entre presión y volumen para la implementación de la técnica in vitro de producción de gases en Medellín, Colombia. *Rev. Col. Cienc. Pec.* 19(4):407-414.

Williams B.A., Bosch M.W., Boer H., Verstegen M.W.A., Tamminga S. 2005. An in vitro batch culture method to assess potential fermentability of feed ingredients for monogastric diets. *Anim. Feed Sci. Technol.* 123-124: 445-462.