

Efecto del nivel de incorporación de maíz sobre la degradabilidad de un concentrado *in vitro*

Barraso, C.^{1@}; Cobos, S.²; López-Parra, M.M.¹; Rodríguez, J.²; García, A.³ y Rodríguez, P.L.²

¹ Departamento de Calidad de Carne. Centro de Investigaciones Científicas y Tecnológicas de Extremadura (CICYTEX). Badajoz. España.

² Departamento de Producción Animal y Ciencia de los Alimentos. Facultad de Veterinaria, Universidad de Extremadura. Cáceres. España.

³ Departamento de Producción Animal. Centro de Investigaciones Científicas y Tecnológicas de Extremadura (CICYTEX). Badajoz. España.

PALABRAS CLAVE

Almidón.
Piensos.
Producción de gas.
Metano.

RESUMEN

Los rumiantes, debido a las características fermentativas de su sistema digestivo, generan y emiten metano a la atmósfera, un gas de efecto invernadero que contribuye al calentamiento global. Debido a la importancia que tiene la ganadería en España, es necesario plantear estrategias que reduzcan dichas emisiones. Una de ellas, es la utilización de almidones vítreos en la formulación de dietas de rumiantes. Su menor degradabilidad ruminal, da lugar a una disminución de la producción de metano. El objetivo de este estudio fue evaluar el comportamiento fermentativo de un sistema de mezclas cebada/maíz, así como, de un concentrado comercial de cebo de terneros con diferentes niveles de maíz. Para ello, se llevó a cabo un análisis *in vitro* de producción de gas y metano. Las mezclas de cebada/maíz se fermentaron durante 18h y los concentrados durante 18 y 96h. Para las mezclas cebo/maíz, la menor producción de gas se obtuvo con 100% maíz (207,97ml/g), aumentando el metano 0,11 mlCH₄/g por cada punto porcentual de cebada añadido. Respecto a los concentrados, tras 18h de fermentación la menor producción de gas y metano se asoció al control y al concentrado con mayor nivel de maíz respectivamente. Tras la fermentación 96h el concentrado con mayor nivel de maíz registro los mayores niveles de producción de gas y metano. Ambos cereales muestran diferentes perfiles fermentativos y metanogénicos *in vitro*, limitando la producción de gas y metano al incluir maíz en concentrado de terneros.

Effect of the level of corn incorporation on the degradability of a concentrate *in vitro*

SUMMARY

Ruminants are a major source of greenhouse gas emissions because of their fermentative digestive system produces certain end products such as methane. Livestock plays a crucial role in Spain, It therefore seems necessary to develop strategies to reduce these emissions. One of them is the use of vitreous starches in ruminants feed, as their low degradability in the rumen leads to a decrease in methane production. The study aimed to evaluate the effects on ruminal fermentation of different levels of inclusion of corn starch in a barley/corn mixture system, as well as a commercial calf feedstuff based on *in vitro* analysis of gas and methane production. The barley/corn mixtures were fermented for 18h, while the feedstuffs were fermented for 18 and 96h. For the barley/corn mixtures, the lowest gas production level was observed in the 100% corn (207,97ml/g), increasing methane production by 0,11 ml methane/g for each percentage point of barley added. In the feedstuff, after 18h fermentation, the lower gas and methane production was associated to the control and the higher maize concentrate respectively. After 96h of fermentation, the highest gas and methane production level corresponded to the highest starch level. Both cereals show different fermentative and methanogenic profiles *in vitro*, limiting gas and methane production when corn is included in calf concentrate.

ADDITIONAL KEYWORDS

Starch.
Feedstuffs.
Gas production.
Methane.

INFORMACIÓN

Cronología del artículo.
Recibido/Received: 21.03.2022
Aceptado/Accepted: 10.10.2023
On-line: 15.10.2023
Correspondencia a los autores/Contact e-mail:
carmen.barraso@juntaex.es

INTRODUCCIÓN

La producción ganadera desempeña un papel fundamental en la economía de las zonas rurales, sus actividades ligadas a la tierra contribuyen al asentamiento de la población, además de jugar un papel fundamental en los sistemas alimentarios, aportando productos ricos en proteínas, vitaminas y minerales de alta calidad (López-Pedrouso *et al.*, 2020). Sin em-

bargo, la producción ganadera tiene el efecto negativo de contribuir activamente al cambio climático al emitir gases de efecto invernadero (GEI) a lo largo de su ciclo productivo. El principal GEI asociado a la producción ganadera y más concreto a los rumiantes es el metano (CH₄), cuyo origen radica en la fermentación ruminal y supone el 68,39% de las emisiones de CH₄ del sector primario en España (MITECO 2021).

Las acciones para mitigar las emisiones de GEI procedentes del sector ganadero han adquirido vital importancia, ya que el cambio climático es una amenaza real con múltiples repercusiones, que pone en peligro la producción agroganadera.

Uno de los posibles planteamientos que se reporta desde el campo de la nutrición animal es la utilización de concentrados amiláceos de degradación lenta, formulados a partir de cereales como el maíz, caracterizado por presentar un endospermo córneo y gránulos de almidón de gran tamaño, envueltos en una matriz proteica continua y densa (Xu *et al.*, 2019). Esta estructura compacta dificulta el ataque microbiano de las partículas de almidón, escapando del rumen sin ser totalmente fermentados, reduciendo por tanto la producción de gas y CH₄ ruminal, al mismo tiempo que permite que parte del almidón se digiera en el intestino directamente en forma de glucosa (McLeod *et al.*, 2006). Por tanto, el aumento de la presencia de almidones de maíz en la formulación de concentrados de cebo podría ser una posible estrategia para la mitigar la producción de CH₄ en rumiantes de cebo. Sin embargo, esta sugerencia contradice, en alguna medida, con las recomendaciones y uso de materias primas habitualmente utilizadas como referencia. Así, las normas FEDNA (2019) establecen un nivel máximo de 40% de grano de maíz en fórmulas de concentrados para terneros y corderos, junto a un máximo de 45% de almidón FEDNA (2008).

Por lo tanto, resulta interesante abordar en qué medida la cantidad de maíz y su almidón repercuten sobre la producción de gas y CH₄ en el proceso de fermentación. Por ello, el objetivo de este estudio fue determinar el efecto que ejerce la inclusión de diferentes porcentajes de maíz sobre la cinética de producción de gases y la producción de CH₄ in vitro en un sistema de mezclas cebada/maíz, así como, en un concentrado de cebo de terneros con diferentes niveles de incorporación de maíz, para determinar si la mayor presencia de maíz altera el comportamiento fermentativo y/o ejerce algún efecto sobre la producción de CH₄.

MATERIAL Y MÉTODOS

Para el desarrollo de este estudio se diseñaron dos tipos de ensayos:

El primero, basado en el estudio de un sistema de mezclas cebada/maíz en diferentes proporciones (cebada/maíz): 100/0; 75/25; 50/50; 25/75 y 0/100. La elaboración de las mezclas se llevó a cabo con una amasadora doméstica, tras haber realizado pruebas previas para determinar el tiempo óptimo de mezcla.

El segundo, en el cual se incluyó maíz a un concentrado de cebo de terneros hasta alcanzar diferentes proporciones: 41% (C5), 43% (C10) y 44,85% (C15), que suponen, respectivamente un 5, 10 y 15% sobre el nivel de maíz del concentrado de referencia, superando las recomendaciones FEDNA (2019) para terneros de cebo.

ANÁLISIS QUÍMICO DE LOS CONCENTRADOS EXPERIMENTALES

Las muestras se analizaron siguiendo el Reglamento CE 152/2009 (EC, 2009), para cenizas, materia orgánica (M.O), grasa bruta (G.B), proteína bruta (P.B), fibra bruta (F.B), fibra neutro detergente (F.N.D) y fibra ácido detergente (F.A.D).

PROCESO DE FERMENTACIÓN IN VITRO: PRODUCCIÓN DE GAS

PROCESO DE FERMENTACIÓN IN VITRO: PRODUCCIÓN DE GAS

Para llevar a cabo el proceso de fermentación *in vitro* se siguió el protocolo propuesto por Menke *et al.* (1979), para ello, se utilizaron jeringas de vidrio de 120ml de capacidad con punta tipo Luer, a las que se incorporó una válvula de tres vías, que permitió conseguir un cierre hermético de la jeringa y acoplar diferentes dispositivos de medida.

Como fuente de inóculo se utilizaron heces frescas de ovino (El Shaer *et al.*, 1987) dada la alta correlación demostrada al compararlas con el uso del líquido ruminal (Ramin *et al.*, 2015), evitando además las objeciones de los comités éticos de experimentación animal (Spanghero *et al.*, 2019).

Las heces fueron extraídas directamente del recto del animal y justo antes del inicio del proceso de fermentación.

El procedimiento consta de los siguientes pasos:

- Fabricación de saliva artificial a partir de cuatro soluciones (Aghajanzadeh *et al.*, 2015): solución macromineral, solución tampón, solución reductora y solución micromineral.

- Elaboración de líquido fecal, mezclando homogéneamente 600ml de saliva artificial con 100g de heces frescas.

PRIMER ENSAYO (MEZCLAS CEBADA/MAÍZ)

En el primer ensayo se emplearon dos gradillas de 12 jeringas (4 jeringas/fila) con un total de 24 jeringas, dispuestas de tal modo que, en cada gradilla, 2 jeringas actúan como blanco (sólo 30ml de líquido fecal), otras 2 actúan de testigo (0,2g de cebada como sustrato fermentador de referencia). Las 4 filas de jeringas restantes contienen como sustrato fermentador 0,2g de mezclas de estudio, con 4 jeringas por cada mezcla elaborada, siempre en condiciones equivalentes.

Las muestras fueron incubadas a 39°C durante un periodo de 18h, ya que este periodo se considera suficiente para determinar el potencial de degradación de un concentrado (Damiran & Yu, 2010). Transcurrido este tiempo, se midió el desplazamiento del émbolo producido por el gas de fermentación.

SEGUNDO ENSAYO (INCLUSIÓN DE MAÍZ EN CONCENTRADO DE CEBO)

Se siguió el mismo diseño experimental que en el primer ensayo, de tal modo que, en cada gradilla 2 jeringas actúan como blancos (sólo 30ml de líquido fecal), otras 2 actúan como testigo (0,2g de cebada como sustrato fermentador de referencia) y 4 jeringas para cada concentrado de estudio (control, C5, C10 y C15). Inicialmente, las mismas muestras se sometieron a un periodo de fermentación de 96h, anotando el avance del émbolo a las 0, 2, 4, 6, 8, 10, 12, 24, 48, 72 y 96 horas, con el fin de estudiar la cinética de producción de gases (El-Meadaway *et al.*, 1998). Posteriormente, se hizo una réplica de la prueba durante un periodo fermentativo

de 18h, para igualar los tiempos con los empleados previamente en las mezclas cebada/maíz.

MEDIDA DE LA PRODUCCIÓN FINAL DE CH₄

La medida de la producción de CH₄ se realizó al terminar la prueba de fermentación (tras 18h en el primer ensayo y tras 18h y 96h en el segundo ensayo) mediante un detector de gases GMI PS200, que determina el porcentaje de CH₄ en el gas producido. Para su medición, se utilizó un sistema de circuito cerrado de gases, donde conducimos a un bote Duran de 500ml el gas generado en el interior de las jeringas. La concentración final se expresó como ml de CH₄/g de material fermentado.

Globalmente, el diseño experimental trata de detectar los efectos del sustrato sobre la producción total de gas y de CH₄ mediante un método sencillo y reproducible en condiciones de laboratorio.

ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Las distintas variables se describieron mediante su media y desviación típica. Las posibles diferencias causadas por la proporción de cebada/maíz, o por el porcentaje de maíz incorporado al concentrado, se analizaron mediante una prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis, equivalente a un análisis de la varianza, debido a que la variable porcentaje de CH₄ no sigue una distribución normal. En el caso de que las diferencias resultaran estadísticamente significativas ($P < 0,05$), los grupos independientes se establecieron mediante una prueba de Dunn (Dinno, 2015).

La relación lineal entre variables se calculó mediante una ecuación de regresión, valorando el ajuste mediante el coeficiente de correlación lineal r .

Para ello, se utilizó el programa estadístico SPSS V23

RESULTADOS

PRIMER ENSAYO

En el primer ensayo se analizaron las mezclas cebada/maíz (100/0, 75/25, 50/50, 25/75, 0/100). Los resultados obtenidos para la composición química (Tabla I), son consistentes con los porcentajes de cebada/maíz incorporados.

En la Tabla II se recogen los resultados referentes al proceso de fermentación *in vitro*. La mayor producción de gas ($P < 0,001$) se asocia a los mayores porcentajes de cebada en la mezcla, en tanto que la menor se corresponde con el 100% de maíz, encontrándose el resto de las mezclas de estudio en posiciones intermedias.

Referente a la producción de CH₄ (Tabla II), se observa un comportamiento paralelo al de la producción de gas, de manera que un incremento del maíz en la mezcla se acompaña de un descenso significativo en su producción, comprobándose que la incorporación de un 75% de maíz o más en la mezcla, determina una disminución significativa de la producción de CH₄ ($P < 0,05$), frente a niveles de maíz inferiores al 25%. En nuestro caso, la respuesta de producción de CH₄ sigue una tendencia lineal en función de la incorporación de cebada a la mezcla, lo que permite su modelización (Figura 1) con un ajuste de $r = 0,97$. Estos resultados determinan que en un sistema de mezcla de cebada/maíz, la mínima producción de CH₄ se alcanza con el 0% de cebada, elevándose en 0,11ml/g de sustrato de fermentado por cada punto porcentual de cebada añadido en la mezcla.

Tabla I. Análisis químico de las mezclas cebada/maíz (media ± desviación típica) expresado en porcentaje de materia seca (Chemical analysis of barley/maize mixtures (mean ± standard deviation) expressed as percentage of dry matter.)

C/M	M.O	G.B	P.B	F.B	F.N.D	F.A.D
100/0	97,47±0,52	2,45±0,08	11,65±0,12	3,73±0,40	41,32±1,14	6,14±0,52
75/25	97,85±0,08	3,09±0,01	10,05±0,10	3,13±0,61	37,68±1,40	5,48±0,76
50/50	97,92±0,17	3,24±0,91	9,70±0,17	2,73±0,34	33,07±2,13	4,84±0,87
25/75	97,85±0,03	3,33±0,04	9,05±0,17	2,20±0,38	28,98±1,90	4,31±1,35
0/100	97,47±0,52	4,35±0,18	8,15±0,53	1,26±0,23	25,13±2,73	6,69±0,86

C/M, porcentaje de cebada/maíz en la mezcla; M.O, Materia Orgánica; G.B, Grasa Bruta; P.B, Proteína Bruta; F.B, Fibra Bruta; F.N.D, Fibra Neutra Detergente; F.A.D, Fibra Ácido Detergente; Cn, concentrado control; C, cebada; M, maíz; C5, concentrado con un 41% de maíz; C10, concentrado con un 43% de maíz; C15, concentrado con un 44,85% de maíz.

Tabla II. Producción de gas y CH₄ de las mezclas cebada/maíz tras 18h de incubación (media ± desviación típica). (Gas and CH₄ production of the barley/corn mixtures after 18h incubation (mean ± standard deviation)).

C/M	P.G	CH ₄
100/0	260,37c ± 8,60	31,24b ± 1,03
75/25	258,06c ± 7,80	30,33b ± 1,72
50/50	252,49bc ± 4,36	27,16ab ± 1,60
25/75	236,86ab ± 7,78	24,84a ± 0,71
0/100	207,97a ± 6,27	19,79a ± 1,70
P	0,0001	0,02

Letras minúsculas diferentes en la misma columna indican diferencias estadísticamente significativas entre las medias (test de Dunn, $P < 0,05$). C/M, porcentaje de cebada/maíz en la mezcla; P.G, producción de gas expresado en ml/g de sustrato fermentado; CH₄, producción de metano expresado en mlCH₄/g de sustrato fermentado.

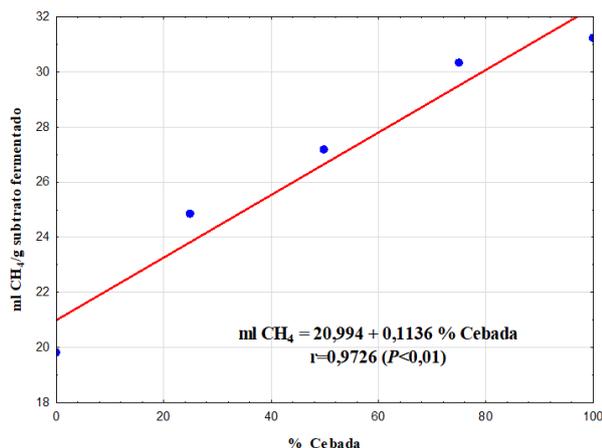


Figura 1: Producción de CH₄ en función del % de cebada incorporado en la mezcla de cebada/maíz. (Methane production according to % incorporation of barley in the barley/corn mixture).

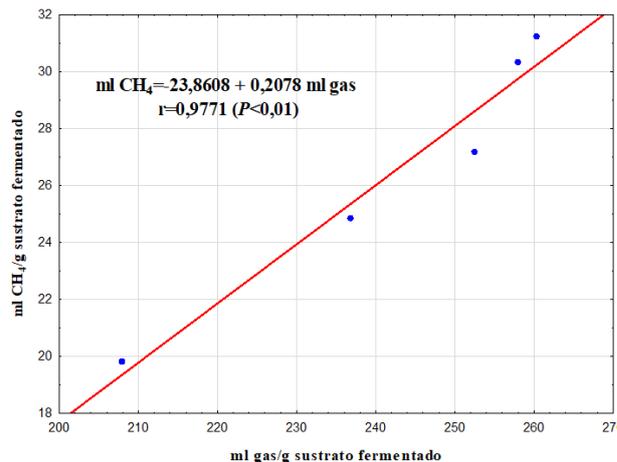


Figura 2: Producción de CH₄ en función de los ml de gas producidos en un sistema de mezcla cebada/maíz. (Methane production according to ml of gas production in a system mixture barley/corn).

Igualmente, si analizamos la producción de CH₄ en función de gas generado (**Figura 2**), podemos observar que, en el rango de 210 a 260ml de gas producido, el CH₄ aumenta 0,21ml/g por cada nuevo ml de gas producido.

SEGUNDO ENSAYO

En el segundo ensayo, se estudió el efecto de la incorporación de almidón de maíz en distintas proporciones a un concentrado comercial de cebo de terneros, obteniendo así tres concentrados experimentales (C5, C10 y C15) cuya composición química se indica en la **Tabla III**.

En cuanto a la cinética de producción de gases en el ensayo de fermentación larga (**Tabla IV** y **Figura 3**), encontramos diferencias estadísticamente significativas ($P < 0,05$) en la producción de gas, excepto a las 8h.

Tomando la cebada como referencia, observamos que al inicio de la fermentación es el sustrato que menor gas produce. A las 6h, presenta valores intermedios entre C10 y el concentrado control. Es a partir de las 10h cuando la producción de gas es notablemente superior al resto de concentrados, hasta las 48h, donde el C15 presenta valores semejantes incluso superiores hasta el final del proceso de fermentación. El análisis de estos resultados resulta complejo, pero se podrían definir dos fases (**Figura 3**), una inicial hasta las prime-

ras 12h, donde se aprecia una menor producción de gas en el concentrado C10, que, en función de los resultados del primer ensayo (**Figura 2**) debería corresponder con una menor producción de CH₄ debido a la correlación encontrada entre ambos parámetros. Y otra fase posterior, a partir de las 24h en que C15 produce más gas que el resto de los concentrados, igualando a la cebada, a pesar de tener la mayor proporción de maíz.

En cuanto a la producción de CH₄ obtenida al final del periodo de fermentación (**Tabla IV**), podemos observar dos grupos claramente diferenciados. Por un lado, la cebada y el concentrado C15, y, por otro, el resto de los concentrados del estudio, no ajustándose al comportamiento planteado en la hipótesis de partida, ya que el concentrado con mayor porcentaje de almidón de maíz (C15) es el que más CH₄ produce.

Tras los resultados obtenidos en la cinética de fermentación de los concentrados, y con el fin de hacer una comparación directa con el primer ensayo, se optó por realizar una fermentación a 18h en condiciones similares. Estos datos se recopilan en la **Tabla V**, donde, podemos observar un mayor nivel de producción de gas ($P < 0,01$) asociado a la cebada, frente al concentrado control, posicionándose C5, C10 y C15 en niveles intermedios. Comparando estos resultados con los obtenidos en el primer ensayo (**Tabla II**), cabría esperar que la menor producción de gas se asociara al C15,

Tabla III. Análisis químico de los concentrados experimentales (media ± desviación típica). (Chemical analysis of the experimental concentrates (mean ± standard deviation)).

	M.O	G.B	P.B	F.B	F.N.D	F.A.D
Cn	95,87±0,79	5,18±0,31	12,99±0,63	8,21±0,76	40,36±3,71	10,48±0,73
C	97,47±0,52	2,45±0,08	11,65±0,12	3,73±0,40	41,32±1,14	6,14±0,52
M	97,47±0,52	4,35±0,18	8,15±0,53	1,26±0,23	25,13±2,73	6,69±0,86
C5	97,55±0,44	5,03±0,47	14,29±0,04	5,65±0,73	31,60±1,22	7,50±0,11
C10	96,75±0,62	4,87±0,18	14,63±0,11	5,64±0,72	33,64±0,76	10,15±0,76
C15	97,30±0,07	3,37±0,53	14,53±0,16	5,12±1,45	34,50±0,48	7,61±0,61

M.O, Materia Orgánica; G.B, Grasa Bruta; P.B, Proteína Bruta; F.B, Fibra Bruta; F.N.D, Fibra Neutro Detergente; F.A.D, Fibra Ácido Detergente; Cn, concentrado control; C, cebada; M, maíz; C5, concentrado con un 41% de maíz; C10, concentrado con un 43% de maíz; C15, concentrado con un 44,85% de maíz.

Tabla IV. Producción de gas y CH₄ tras un periodo de fermentación de 96h. (Gas and CH₄ production after a fermentation period of 96h).

		Cebada	Control	C5	C10	C15	P
P.G 4h	Media	15,86a	24,40b	29,61b	20,80ab	23,42ab	0,001
	d.t	5,84	0,76	6,81	4,98	3,54	
P.G 6h	Media	45,05ab	47,74b	54,46b	37,14a	43,81ab	0,0001
	d.t	4,00	1,32	9,24	5,15	1,53	
P.G 8h	Media	74,18	64,42	65,97	63,43	68,43	ns
	d.t	7,87	5,54	6,22	7,26	5,03	
P.G 10h	Media	98,20b	82,83a	82,41a	78,93a	85,23a	0,001
	d,t	4,94	5,80	7,23	9,76	1,15	
P.G 12h	Media	145,07c	114,14ab	114,75ab	102,77a	125,56b	0,0001
	d.t	6,49	8,15	7,44	19,43	2,12	
P.G 24h	Media	302,42c	232,54a	242,35ab	240,71ab	259,53bc	0,0001
	d.t	8,55	13,12	4,40	16,79	3,14	
P.G 48h	Media	339,87b	282,42a	295,87a	305,41ab	340,78b	0,0001
	d.t	13,75	13,33	8,58	11,09	10,28	
P.G 72h	Media	350,39bc	301,70a	315,00a	326,33ab	366,56c	0,0001
	d.t	13,34	14,91	9,01	12,71	13,08	
P.G 96h	Media	355,75bc	308,33a	320,47a	328,73ab	369,82c	0,0001
	d.t	11,50	14,96	8,16	12,75	13,17	
CH ₄ -96h	Media	159,05b	128,26a	129,90a	130,53a	161,22b	0,001
	d.t	17,48	5,53	5,43	9,29	10,02	

Letras minúsculas diferentes en la misma columna indican diferencias estadísticamente significativas entre las medias (test de Dunn, $P < 0,05$); ns, no significativo; C5, concentrado con un 41% de almidón de maíz; C10, concentrado con un 43% de almidón de maíz; C15, concentrado con un 44,85% de almidón de maíz; P.G, producción de gas expresado en ml/g de sustrato fermentado; d.t, desviación típica; CH₄, producción de metano expresado en mlCH₄/g de sustrato fermentado.

sin embargo, es el concentrado control el que presenta menor producción de gas.

Respecto a la producción de CH₄ (Tabla V), encontramos diferencias estadísticamente significativas ($P < 0,05$) entre las muestras de estudio. En este caso, el comportamiento es similar en ambos ensayos, donde el aumento de la concentración de almidón de maíz en

la muestra disminuye significativamente la producción de CH₄, siendo el C15 el menos metanogénico.

DISCUSIÓN

Los resultados de la composición de los cereales utilizados en las mezclas cebada/maíz (Tabla I) entra dentro del rango habitual de variación. Así un 11,65% de P.B para la cebada está en el centro del rango de

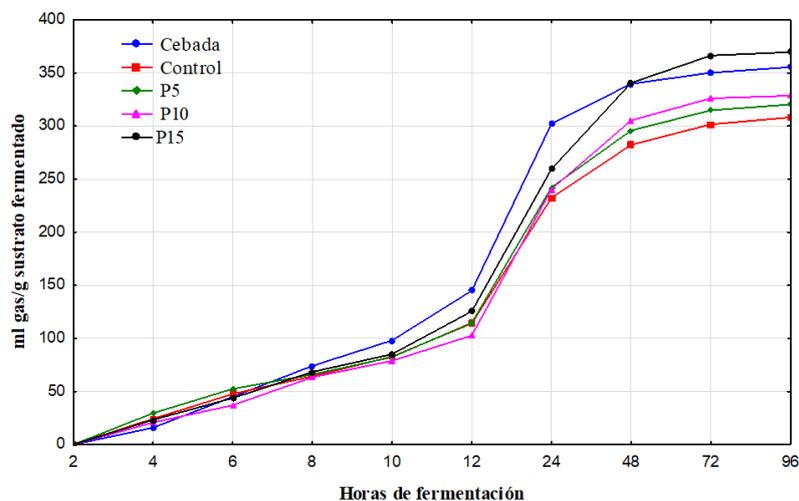


Figura 3: Cinética de producción de gases de los diferentes concentrados experimentales. (Gas production kinetics of the different experimental concentrates)

Tabla V. Producción de gas y CH₄ tras un periodo de fermentación de 18h (media ± desviación típica). (Gas and CH₄ production after a fermentation period of 18h (mean ± standard deviation)).

	P.G	CH ₄
Cn	165,47a ± 8,76	17,39ab ± 2,53
C	210,83b ± 5,74	21,64b ± 2,53
C5	170,85ab ± 5,35	17,09ab ± 1,00
C10	182,46ab ± 4,44	15,94ab ± 1,18
C15	170,57ab ± 11,51	15,76a ± 1,13
P	0,0001	0,04

Letras minúsculas diferentes en la misma columna indican diferencias estadísticamente significativas entre las medias (test de Dunn, $P < 0,05$). P.G, producción de gas expresado en ml/g de sustrato fermentado; CH₄, producción de metano expresado en mlCH₄/g de sustrato fermentado; Cn, concentrado control; C, cebada; C5, concentrado con un 41% de almidón de maíz; C10, concentrado con un 43% de almidón de maíz; C15, concentrado con un 44,85% de almidón de maíz.

variación (8-14%) indicado para esta especie (FEDNA, 2019). El maíz, por su parte está dentro del rango alto de P.B que se extiende del 6 al 9% (FEDNA, 2019). En cuanto al parámetro F.B correlacionado negativamente con la presencia de almidón (FEDNA, 2019), la cebada está dentro del rango bajo de variación (2,5-6%), en tanto que el maíz está, igualmente, en el rango bajo (1,3-2,6) de la variación habitual (FEDNA, 2019).

Los resultados de producción de gas obtenidos en el primer ensayo (Tabla II), avalan la hipótesis inicial de partida, ya que, a medida que la concentración de maíz aumenta en la muestra, la producción de gas disminuye. En concordancia con nuestros resultados, aunque utilizando técnicas de degradación enzimática *in vitro*, Herrera-Saldana *et al.* (1990) también obtuvieron una degradabilidad significativamente superior (28%) para el almidón de cebada, con respecto al de maíz. Asimismo, Opatpatanak *et al.* (1994) indicaron una producción de gas a las 7h un 60% mayor para la cebada que para el maíz. Un meta-análisis realizado por Offner *et al.* (2003) también observaron una mayor degradabilidad ruminal de la cebada en comparación con el maíz. En la misma línea, Restrepo *et al.* (2016) en un estudio de fermentación *in vitro* evaluaron cuatro suplementos comerciales con diferentes fuentes de energía y obtuvieron como resultado una menor producción de gas a las 24h en aquellos suplementos cuya principal fuente de energía la conformaba el maíz.

Por otro lado, Atasoglu & Yurtman (2007), utilizando la técnica de producción de gas *in vitro*, no encontraron diferencias estadísticamente significativas entre los diferentes cereales analizados tras 12h de incubación. Resultados similares fueron encontrados por Chai *et al.* (2004), quienes no encontraron diferencias significativas en la producción de gas entre la cebada (260ml/g) y el maíz (246ml/g) tras 16h de incubación.

Paralelamente, si comparamos los resultados de producción de gas a las 18h en ambos ensayos (Tabla II y Tabla V), no se observa el mismo patrón de comportamiento, ya que, teóricamente, el C15 debería presentar una menor producción de gas al contener un mayor porcentaje de almidón de maíz, sin embargo, la menor producción se corresponde con el concentrado de control. Estas diferencias podrían deberse al contenido de almidón vítreo del maíz utilizado, ya que su concentración depende de la variedad de planta y

del momento de la cosecha (Trinacty *et al.*, 2016), asociándose la degradabilidad del almidón al grado de vidriosidad de éste (Correa *et al.*, 2002). En cualquier caso, para los cereales, se acepta que la producción de gas es directamente proporcional al almidón disponible (Lanzas *et al.*, 2007).

En cuanto a la producción de CH₄ los resultados muestran patrones de comportamiento similares (Tabla II y V), confirmando de nuevo la hipótesis inicial. Aunque es difícil comparar nuestros resultados con otros, teniendo en cuenta la escasez de estudios y las variaciones en la metodología utilizada. Restrepo *et al.* (2016) en condiciones *in vitro*, encontró una menor producción de CH₄ en la evaluación de diferentes fuentes de energía de la dieta para rumiantes, siendo la dieta que contenía maíz la menos metanogénica. Carro & Ranilla (2003) en condiciones *in vitro*, también encontraron una mayor concentración de CH₄ para la cebada (673µmol) frente al maíz (646 µmol).

Por otro lado, Beauchemin & McGinn (2005) en ensayos *in vivo*, encontraron una reducción de la producción de CH₄ del 4,03% al 2,81% de la energía bruta ingerida al utilizar maíz en lugar de cebada como concentrado energético de terneros de cebo, sin embargo, López *et al.* (2011), obtuvieron valores significativamente mayores (+11,6%) en cabras alimentadas con maíz respecto a la cebada.

Estos resultados, aparentemente contradictorios con la tendencia general, pueden explicarse por un mejor acoplamiento de la tasa de fermentación de la cebada con la proteína, que aportaría menos hidrógeno libre en el rumen para generar CH₄. Paralelamente, el maíz, con una degradación más lenta, dejaría más partículas metanogénicas disponibles para los microorganismos ruminales, que, en el animal vivo, escaparían del rumen (Allen & Ying, 2021).

Hatew *et al.* (2015) en un estudio de fermentación *in vitro*, indican resultados con una tendencia inversa a la nuestra, ya que los concentrados con mayor proporción de almidón degradable producen menos gas y CH₄ a las 24h de fermentación.

En la Tabla IV y Figura 3 se recogen los resultados de la cinética de producción de gas del segundo ensayo. Partiendo de la premisa que el tiempo máximo esperable de un concentrado molido en el rumen es

de 24h (Kramer *et al.*, 2013; Warner *et al.*, 2013), observamos que en nuestro estudio existe un cierto efecto inhibidor de la producción de gas cuando se incorpora maíz a la mezcla en comparación con la cebada de referencia.

En cuanto a los resultados obtenidos para la producción de CH₄ al final del proceso de fermentación (Tabla IV), es difícil contrastarlos con los resultados de otros autores, ya que la mayoría de los trabajos incluyen tiempos de fermentación inferiores a 48h. Sólo Kim *et al.* (2013), encontraron que el maíz es más metanogénico que la cebada a las 72h de fermentación. Esta mayor producción de gas y CH₄ observada tras 96h en las muestras con mayor concentración de almidón de maíz podría ser indicativa de la mayor persistencia de almidón no degradado en tiempos superiores a 24h, quedando disponible un buen sustrato para ser fermentado por los microorganismos y, por tanto, producir mayor cantidad de gas y CH₄ (Opatpatanak *et al.*, 1994; Chai *et al.*, 2004).

CONCLUSIÓN

En vista de los resultados obtenidos, podemos concluir que existe una diferencia marcada entre el perfil fermentativo y metanogénico de la cebada y el maíz, presentando este último un menor potencial tanto fermentativo como metanogénico. Además, la inclusión de maíz en la formulación de concentrado de cebo de terneros produce una respuesta inhibitoria en la producción de CH₄ *in vitro* tras 18h de incubación, disminuyendo los niveles a medida que aumentan la concentración de almidón de maíz en el concentrado, así como, una respuesta positiva hasta las 12h de fermentación disminuyendo la producción de gas al aumentar el porcentaje de maíz en el concentrado.

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo se ha desarrollado dentro de las investigaciones que se están llevando a cabo en el Departamento de Producción Animal y Ciencia de los Alimentos de la UEx y que están financiadas por el proyecto "Aplicación de tecnologías y datos de precisión para la mejora de la ganadería intensiva (TEGPI)". Expediente AA-17-0084-2. Consejería de Economía e Infraestructuras de la Junta de Extremadura-FEDER y parcialmente por la beca INIA CPD2016-0037. Agradecemos a M^a Jesús Guerrero, su inestimable colaboración en la realización de este trabajo en el laboratorio.

BIBLIOGRAFÍA

- Aghajanzadeh, A, Maheri, N, Salmat, R, Ebrahimnezhad, Y & Ghorbani, A 2015. 'Developing a modified in vitro gas production technique to replace nylon bag method of evaluating protein degradation of alfalfa hay in ruminants', *Iranian Journal of Applied Animal Science*, vol. 5, no. 2, pp. 339-345.
- Allen, MS & Ying Y 2021. 'Effects of corn grain endosperm type and conservation method on site of digestion, ruminal digestion kinetics, and flow of nitrogen fractions to the duodenum in lactating dairy cows', *Journal of Dairy Science*, vol. 104, pp. 7617-7629. <https://doi.org/10.3168/jds.2020-18882>
- Beauchemin, KA & McGinn, SM 2005. 'Methane emissions from feedlot cattle fed barley or corn diets', *Journal of Animal Science*, vol. 83, pp.653-661. <https://doi.org/10.2527/2005.833653x>
- Carro, MD & Ranilla, MJ 2003. 'Influence of different concentrations of disodium fumarate on methane production and fermentation of concentrate feeds by rumen micro-organisms in vitro', *British Journal of Nutrition*, vol. 90, pp.617-623. <https://doi.org/10.1079/BJN2003935>.
- Chai, WZ, Van Gelder, AH & Cone, JW 2004. 'Relationship between gas production and starch degradation in feed samples', *Animal Feed Science and Technology*, vol.114, pp.195-204. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2003.11.014>.
- Correa, CES, Shaver, RD, Pereira, MN, Lauer, GJ & Kohn, K 2002. 'Relationship between corn vitreousness and ruminal in situ starch degradability', *Journal of Dairy Science*, vol. 85, pp. 3008-3012. <https://doi.org/10.3168/JDS.S0022-0302%2802%2974386-5>.
- Damiran, D & Yu P 2010. 'Chemical profile, rumen degradation kinetics, and energy value of four hull-less barley cultivars: comparison of the zero-amylose waxy, waxy, high-amylose, and normal starch cultivars', *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, vol. 58, no.19, pp.10553-10559. DOI:10.1021/jf101624a
- Dinno 2015. 'Nonparametric pairwise multiple comparisons in independent groups using Dunn's test', *The Stata Journal*, vol. 15, no.1, pp. 292-300.
- EC 2009. Commission Regulation (EC) No 152/2009 of 27 January 2009 laying down the methods of sampling and analysis for the official control of feed. Official Journal of the European Union, 26-02-2009.
- El-Meadaway, A, Mir, Z, Mir, PS, Zaman, MS & Yanke, LJ 1998. 'Relative efficacy of inocula from rumen fluid or faecal solution for determining in vitro digestibility and gas production', *Canadian Journal of Animal Science*, vol.78, no.4, pp.673-679. <https://doi.org/10.4141/A97-109>.
- El Shaer, HM, Omed, HM & Chamberlain, AG 1987. 'Use of faecal organisms from sheep for the in vitro determination of digestibility', *Journal of Agriculture Science Cambridge*, vol.109, pp.257-259. <https://doi.org/10.1017/S0021859600080667>.
- FEDNA 2008. Necesidades nutricionales para rumiantes de cebo. Normas FEDNA. Fundación Española para el Desarrollo de la Nutrición Animal. Disponible en: http://www.fundacionfedna.org/sites/default/files/NORMAS_RUMIANTES_2008.pdf. (Consultado: marzo 2022).
- FEDNA 2019. Tablas FEDNA de composición y valor nutritivo de alimentos para la fabricación de piensos compuestos. 4^o ed. Fundación Española para el Desarrollo de la Nutrición Animal. <https://www.fundacionfedna.org/ingredientes-para-piensos>. (Consultado: marzo 2022).
- Hatew, B, Cone, JW, Pellikaan, WF, Podesta, SC, Bannik, A, Hendriks, WH & Dijkstra, J 2015. 'Relationship between in vitro and in vivo methane production measured simultaneously with different dietary starch sources and starch levels in dairy cattle', *Animal Feed Science and Technology*, vol. 202, pp. 20-31. <http://dx.doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2015.01.012>.
- Herrera-Saldana, RE, Huber, JT & Poore, MH 1990. 'Dry matter, crude protein, and starch degradability of five cereal grains', *Journal of Dairy Science*, vol. 73, pp. 2386-2393. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(90\)78922-9](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(90)78922-9).
- Kim, SH, Mamuad, LL, Jeong, CD, Choi, YJ, Lee, SS, Ko, JY & Lee, SS 2013. 'In vitro evaluation of different feeds for their potential to generate methane and change methanogen diversity', *Asian-Australasian Journal of Animal Science*, vol. 26, no. 12, pp. 1698-1707. <https://doi.org/10.5713/ajas.2013.13260>
- Kramer, M, Lund, P & Weisbjerg, MR 2013. 'Rumen passage kinetics of forage- and concentrate-derived fiber in dairy cows', *Journal of Dairy Science* vol. 96, pp. 3163-3176. <http://dx.doi.org/10.3168/jds.2012-6146>.
- Lanzas, C, Fox, DG & Pell, AN 2007. 'Digestion kinetics of dried cereal grains', *Animal Feed Science and Technology*, vol. 136, no. 3-4, pp. 265-280. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2006.09.004>
- López, MC, Ródenas, L, Piquer, O, Cerisuelo, A, Cervera, C & Fernández, C 2011. 'Determinación de producción de CH₄ en caprinos alimentados con dietas con distintos cereales', *Archivos de Zootecnia*,

- vol. 60, no. 232, pp. 943-951. <http://dx.doi.org/10.4321/S0004-05922011000400011>.
- López-Pedrouso, M, Rodríguez-Vázquez, R, Purriños, L, Oliván, M, García-Torre, S, Sentandreu, MA, Lorenzo, JM, Zapata, C & Franco, D 2020. 'Sensory and Physicochemical Analysis of Meat from Bovine Breeds in Different Livestock production Systems, Pre-Slaughter Handling Conditions and Ageing Time', *Foods*, vol. 9, pp. 176. doi:10.3390/foods9020176
- McLeod, KR, Baldwin, RL, El-Kadi, SW & Harmon, DL 2006. 'Site of starch digestion: impact on energetic efficiency and glucose metabolism in beef and dairy cattle', In: *Cattle Grain Processing Symposium, Oklahoma State University*, pp. 129-136.
- Menke, KH, Raab, L, Salewski, A, Steingass, H, Fritz, D & Schneider, W 1979. 'The estimation of digestibility and metabolizable energy content of ruminants feedstuffs from the gas production when they are incubated with rumen liquor in vitro', *Journal of Agricultural Science Cambridge*, vol. 93, no. 1, pp. 217-222. doi:10.1017/S0021859600086305.
- MITECO 2021. Informe resumen Inventario Emisiones GEI. Serie 1990-2019. Ministerio para la Transición Ecológica y Reto Demográfico. Madrid. https://www.miteco.gob.es/es/calidad-y-evaluacion-ambiental/temas/sistema-espanol-de-inventario-sei-/documentoresumeninventariogei-ed2021_tcm30-524841.pdf. (Consultado: enero 2022).
- Offner, A, Bach, A & Sauvant, D 2003. 'Quantitative review of in situ starch degradation in the rumen', *Animal Feed Science and Technology*, vol. 106, pp. 81-93. doi:10.1016/S0377-8401(03)00038-5.
- Opatpatanak, Y, Kellaway, RC, Lean, IJ, Annison, G & Kirby, A 1994. 'Microbial Fermentation of Cereal Grains in Vitro', *Australian Journal of Agricultural and Research*, vol. 45, pp. 1247-1263. <https://doi.org/10.1071/AR9941247>.
- Ramin, M, Leroise, D, Tagliapietra, F & Huhtanen, P 2015. 'Comparison of rumen fluid inoculum vs. faecal inoculum on predicted methane production using a fully automated in vitro gas production system', *Livestock Science*, vol. 181, pp. 65-71. <http://dx.doi.org/10.1016/j.livsci.2015.09.025>
- Restrepo, C, Noguera, RR & Posada, SL 2016. 'Efecto de la sustitución energética del maíz (*Zea mays*) en dietas para rumiantes sobre la producción de metano in vitro', *Livestock Research for Rural Development* vol. 28, no. 10. http://bibliotecadigital.udea.edu.co/bitstream/10495/13639/1/RestrepoCatalina_2016_%20EfectoSustitucionEnergeticaMaiz.pdf.
- Spanghero, M, Chiaravalli, M, Colombini, S, Fabro, C, Foldi, F, Mason, F, Moschini, M, Sarnataro, C, Schiavon, S & Tabliapietra, F 2019. 'Rumen inoculum collected from cows at slaughter or from a continuous fermenter and preserved in warm, refrigerated, chilled or freeze-dried environments for in vitro tests', *Animals*, vol. 9, pp. 815. <https://dx.doi.org/10.3390%2Fani9100815>
- Trinacty, J, Nedelnik, J, Lang, J, Loucka, R & Kucera, J 2016. 'Effect of maize kernel endosperm type and maturity stage on ruminal in situ degradability and post-ruminal in vitro dry matter and starch digestibility', *Czech Journal of Animal Science*, vol. 61, no. 8, pp. 351-359. Doi: 10.17221/62/2015-CJAS.
- Warner, D, Dijkstra, J, Tamminga, S & Pellikaan WF (2013). Passage kinetics of concentrates in dairy cows measured with carbon stable isotopes. *Animal*, 7(12), 1935-1943. DOI: 10.1017/S1751731113001584.
- Xu, A, Lin, L, Guo, K, Liu, T, Yin, Z & Wei, C 2019. 'Physicochemical properties of starches from vitreous and floury endosperms from the same maize kernels', *Food Chemistry*, vol. 291, pp. 149-156. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.04.024>.