

## Comparación entre modelos para interpretar la cinética de producción de gas *in vitro* con heces vacunas depuestas como inóculo

Silvio J. Martínez Sáez, Cecilia E. González Pérez, Marlene León González y Redimio M. Pedraza Oliveira

Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad de Camagüey, Cuba

silvio.martinez@reduc.edu.cu

### RESUMEN

Se proponen modelos para ayudar a interpretar, óptimamente, la cinética de producción de gas *in vitro* con heces vacunas depuestas como inóculo. Se utilizaron muestras de *L. leucocephala*, *G. sepium* y *P. maximum* cuyos perfiles de producción de gas son diferentes. Las muestras se sometieron al procedimiento de producción de gases y se determinaron los volúmenes cada 3 h, durante las primeras 30 h; luego a las 36; 48; 72 y 96 h. Se compararon cinco modelos (dos monofásicos y tres bifásicos) y se determinaron los parámetros para su mejor ajuste. Como criterio de comparación se utilizó el cuadrado medio del error del ajuste y el coeficiente de Durbin-Watson. Se concluyó que los modelos monofásicos no logran describir óptimamente la cinética de producción de gas *in vitro* con heces depuestas; mientras que los bifásicos con componente exponencial simple son útiles. Se seleccionó la ecuación bifásica donde  $V = 0$  para  $t < L$  y  $V = B * (1 - \text{EXP}(-C * (t - L)))$  para  $t \geq L$  como la más útil de las comparadas, si se trabaja con jeringas.

**Palabras clave:** gas *in vitro*, heces depuestas, modelos, mejor ajuste

### INTRODUCCIÓN

Si se pretende que los perfiles de producción de gases sean útiles para predecir el comportamiento animal frente a un alimento dado, debe trabajarse tanto como sea posible en la estandarización del método y mejor interpretación de los resultados, en vez de ponerlo a emular con lo que ocurre *in vivo* (Rymer *et al.*, 2005).

Sucede —más con el uso de heces que con líquido ruminal— que la pendiente del perfil tiende a ser cero en algún momento durante las primeras etapas de la fermentación donde hay muy poca o ninguna producción de gas (la fase *lag*), para luego aumentar bruscamente y luego tender a cero de nuevo (Martínez *et al.*, 2008). Idealmente, se requeriría de una función capaz de modelar este tipo de comportamiento sigmoidal. El reto para quien pretenda diseñar tal modelo es encontrar una ecuación que sea capaz de describir la familia de curvas (France *et al.*, 2005). Se han propuesto varias ecuaciones (Ørskov y McDonald, 1979; Correa, 2004; France *et al.*, 2005); sin embargo, no siempre estos modelos tienen parámetros con algún significado biológico directo y los datos obtenidos de la producción de gas deben ser útiles para, junto a otros datos tales como la composición química del sustrato y/o su degradabilidad *in vitro*, servir como entrada a modelos más complejos para predecir el comportamiento del rumen. El objetivo del trabajo fue proponer modelos que ayuden a interpretar de la mejor manera la cinéti-

ca de producción de gas *in vitro* con heces vacunas depuestas como inóculo.

### MATERIALES Y MÉTODOS

Se utilizaron muestras de *L. leucocephala*, *G. sepium* y *P. maximum* cuyos perfiles de producción de gas son diferentes (Martínez, 2005).

El procesamiento de las muestras y las determinaciones de gas fueron las descritas por Martínez (2005). Se midió el volumen producido cada 3 h durante las primeras 30 y luego a las 36; 48; 72 y 96 h de inyectado el inóculo.

Se seleccionaron para ser evaluados los modelos que aparecen en la Tabla 1, donde:

L: tiempo de la primera fase o fase *lag*.

A: para los modelos 1 y 2 no tiene sentido biológico exacto; se trata de la intercepción con el eje de las ordenadas. En modelos biexponencial es el gas producido para  $t = T$ .

A + B: potencial de gas a producir por el alimento (en el modelo No. 3, A = 0).

B' y C' Se relacionan con la forma de la curva, puntos de inflexión, etc.

Como valor a minimizar, y para la comparación entre los modelos, se utilizó la sumatoria del cuadrado del residual entre los valores experimentales y los calculados.

Otros parámetros utilizados para contrastar la bondad de ajuste fueron:

Cuadrado medio del error (o del residuo) (CME).

Comparación entre modelos para interpretar la cinética de producción de gas *in vitro* con heces vacunas depuestas como inóculo

$$CME = \frac{\sum (e_i - \bar{e})^2}{n - K}$$

Donde,  $\bar{e}$  es la media de  $n$  residuales (número de observaciones) y  $K$  es el número de parámetros estimados en el modelo

Coefficiente de Durbin-Watson (DW)

$$DW = \frac{\sum_{t=2}^n (e_t - e_{t-1})^2}{\sum_{t=1}^n e_t^2}$$

Donde  $e_t$  = residual al tiempo  $t$ , y  $e_{t-1}$  = residual al tiempo  $t-1$

La modelación de la dinámica de producción de gas *in vitro*, tanto con empleo de heces depuestas como con líquido ruminal, se realizó con los 3 valores promedio del volumen de gas medido en cada tiempo.

Para determinar el mejor ajuste a los modelos dinámicos se utilizó el Solver de Microsoft Excel. Los valores de  $r^2$  y el error estándar de la estimación fueron calculados con el uso de funciones de este último software que fue también usado en la determinación de CME y DW.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados de los ajustes a los diferentes modelos y la comparación entre ellos se muestran en las Tabla 2 y Tabla 3. El modelo de Ørskov y McDonald (1979) ha sido el hasta ahora el más utilizado en los trabajos llevados a cabo por los investigadores del Centro de Estudios para la Producción Animal (CEDEPA), de la Universidad de Camagüey en Cuba, y por diversos investigadores en otros países (Martínez, 2005; Hernández, 2006). El modelo de McDonald (1981) incluye una fase *lag* que se sustrae al tiempo pero es monofásico al igual que el anterior.

El modelo de France *et al.* (2005) es el que se reporta como uno de los más usados y estudiados en el seguimiento a la cinética de gas *in vitro* con el uso de líquido ruminal con el apoyo de transductores de presión (Aparicio *et al.*, 2007). Dicho modelo tiene el inconveniente de ser empírico y,

por tanto, no todos sus parámetros tienen algún sentido biológico.

El modelo propuesto por Correa (2004) es una modificación al de Ørskov y McDonald (1979) que fue también sugerida por Posada y Noguera (2007) y todos sus parámetros tienen sentido biológico en la descripción del perfil de producción de gas *in vitro* con el uso de heces depuestas. El modelo Biexponencial se incluyó a partir de criterios expresados en la literatura (Rymer *et al.*, 2005; Posada y Noguera, 2007), sobre la cinética de la producción de gas *in vitro* con el uso de líquido ruminal unido a que la fase *lag* es mayor cuando se usan heces. Este modelo asume que tanto en la digestión de la fracción soluble como en la insoluble hay una cinética de primer orden.

Los modelos de Correa (2004), France *et al.* (2005) y biexponencial presentan menor cuadrado medio del error (CME), que agrupa la variabilidad de factores que no tienen en cuenta al investigador, además de incluir la influencia del número de parámetros (Posada y Noguera, 2007). Estos modelos presentan también mejor comportamiento en relación con el cociente de Durbin-Watson y son, por tanto, mejores en la auto-correlación serial de primer orden entre los residuales (Posada y Noguera, 2007).

En general, tanto para la suma del error cuadrático (cuyo valor mínimo fue el objetivo al buscar los parámetros de mejor ajuste) como para los demás indicadores usados para contrastar la bondad de ajuste, se aprecia que los modelos que consideran más de una fase logran mejor descripción que aquellos que tratan de explicar el proceso con el uso de curvas monótonas. La observación del comportamiento de los residuales (Fig. 1) confirma el planteamiento.

La Tabla 3 contiene un compendio de los parámetros de mejor ajuste a cada uno de los modelos propuestos para los forrajes que se incluyeron en el experimento.

El modelo de France *et al.* (2005) falla a la hora de encontrar un valor de fase *lag*, pues indica que *P. maximum* tiene menor tiempo que *L. leucocephala*, lo cual contradice los datos experimentales (Fig. 2). La razón puede ser que dicho modelo ha sido concebido para ser usado cuando haya mayor concentración de datos en esta primera fase (Van Laar *et al.*, 2006) o, simplemente, porque no logra describir la dinámica de las heces y su fase *lag* más extensa.

Los valores de los parámetros obtenidos con el uso de los modelos que tienen al menos una fase exponencial simple son perfectamente comparables. El ajuste al modelo biexponencial requiere de una buena concentración de puntos en las primeras horas, lo que resulta difícil si no se cuenta algún nivel de automatización. La limitación del propuesto por Correa (2004) es que asume que en la fase *lag* no se produce gas, lo que lo inhabilita para estudiar mejor la cinética de alimentos con elevada fracción soluble y rápidamente digestible como podrían ser los concentrados y forrajes de alta digestibilidad. Puede, sin embargo, ser muy útil para forrajes con proporcionalmente pequeña fracción soluble y no requiere de tantas mediciones en las primeras horas como necesitaría el modelo biexponencial. Para gas *in vitro* con el uso de heces o líquido ruminal sólo tienen sentido biológico los valores de A obtenidos con el uso del modelo bifásico exponencial y sería el volumen al terminar la fase *lag*, producido básicamente por la fracción soluble del alimento, lo que se demostró en cuatro forrajes contrastantes por su digestibilidad (Pedraza, 1998).

Los valores de A + B obtenidos con los modelos monofásicos (con o sin inclusión de la fase *lag*) no parecen dar una medida del real valor del alimento. Por ejemplo, según estos modelos *P. maximum* es de mucho mayor potencial que *L. leucocephala* y *G. sepium*, lo que se contradice con resultados anteriores (Keir *et al.*, 1997; Pedraza, 1998 y La O, 2001) y con la predicción hecha al utilizar los modelos restantes.

La limitación está dada por el hecho de que los modelos de Ørskov y McDonald (1979) y McDonald (1981) no incluyen puntos de inflexión y resulta muy difícil que puedan describir la dinámica de la producción de gas *in vitro* con heces como inóculo, que tienden a presentar un punto de inflexión claro al final de la primera fase (Martínez *et al.*, 2008), que es más larga que con el uso de líquido ruminal.

Al comparar los valores de estos parámetros para los diferentes modelos estudiados se observa que los propuestos por Ørskov y McDonald (1979) y McDonald (1981) son iguales y diferentes a los restantes, lo que confirma los planteamientos hechos en párrafos anteriores.

La gráfica (Fig. 2) permite apreciar la causa del resultado mostrado anteriormente, especialmente en su primera fase (antes de la producción rápida

de gas). Los modelos sin componente para reconocer la forma sigmoidal de la curva son incapaces de describir esta fase, que resulta más pronunciada cuando se usan heces y más frente a sustratos difíciles de colonizar, como en este caso *P. maximum*.

Los modelos han de estar en concordancia con el objetivo que se pretenda con los análisis y con las posibilidades de equipamiento del laboratorio en el que se ha llevado a cabo, no hay un método único para elegir entre modelos (Jay y Torres, 2007; Posada y Nogueras, 2007), pues ningún modelo puede ser auténticamente universal.

## CONCLUSIONES

Los modelos monofásicos no logran describir correctamente la cinética de producción de gas *in vitro* con heces depuestas.

Los modelos bifásicos con componente exponencial simple son útiles para representar el comportamiento de la dinámica de gas *in vitro* con el uso de heces depuestas como inóculo.

La ecuación bifásica donde  $V = 0$  para  $t < L$  y  $V = B * (1 - \text{EXP}(-C * (t - L)))$  para  $t \geq L$  es la más útil de las contratadas, si se trabaja con jeringas.

## REFERENCIAS

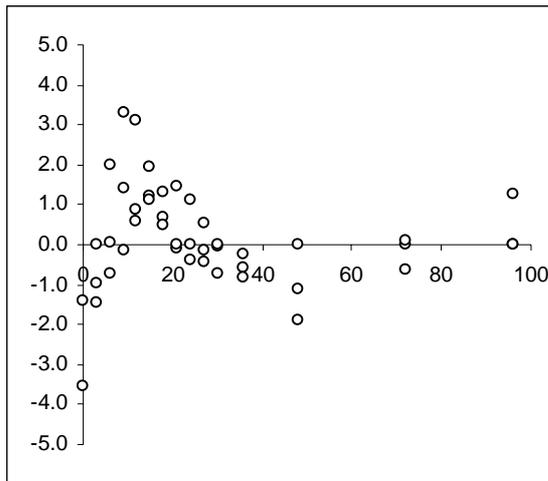
- APARICIO, R.; GONZÁLEZ-RONQUILLO, M.; TORRES, R.; ASTUDILLO, L.; CORDOBA, L. y CARRASQUEL, J. (2007). Degradabilidad de los pastos lamedora (*Leersia hexandra*) y paja de agua (*Hymenachne amplexicaulis*) en cuatro épocas del año de una sabana inundable del estado Apure, Venezuela. *Zootecnia Trop.*, 25 (3), 225-228. Extraído en mayo de 2008, desde [www.scielo.org.ve/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0798-72692007000300014&lng=en&nrm=iso](http://www.scielo.org.ve/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0798-72692007000300014&lng=en&nrm=iso). ISSN 0798-7269.
- CORREA, H. J. (2004). RUMENAL: Procedimiento para estimar los parámetros de cinética ruminal mediante la función Solver de Microsoft Excel. *Rev. Col. Cienc. Pec.*, 17 (3), 2004.
- FRANCE, J.; LOPEZ, S.; KEBREA, E.; BANNINK, A.; DHANOA, M. S. y DIJKSTRA, J. (2005). A General Compartmental Model for Interpreting Gas Production Profiles. *Animal Feed Science and Technology*, 123 (2), 473-485.
- HERNÁNDEZ, J. E. (2006). *Valoración de la caprinocultura en la Mixteca Poblana: socioeconomía y recursos arbóreo-arbustivos*. Tesis de doctorado en Ciencias Veterinarias, Universidad de Camagüey, Cuba.

Comparación entre modelos para interpretar la cinética de producción de gas *in vitro* con heces vacunas depuestas como inóculo

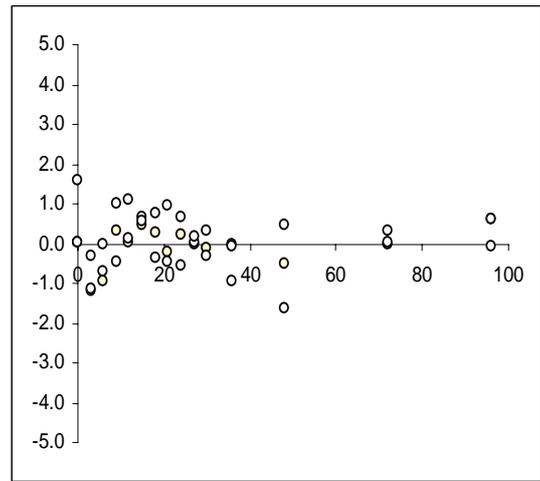
- JAY, O. y TORRES, V. (2007). *Bondad de ajuste y supuestos básicos en la modelación de la degradación ruminal de forraje de CT-115*. II Congreso Internacional de Producción Animal Tropical, ICA, La Habana.
- KEIR, B.; LAI, N. V.; PRESTON, T. R. y ØRSKOV, E. R. (1997). Nutritive Value of Leaves from Tropical Trees and Shrubs: 1. *In vitro* Gas Production and *in sacco* Rumen Degradability. *Livestock Research for Rural Development*, 9 (4).
- LA O, O. (2001). *Contribución al estudio del valor nutritivo de diferentes ecotipos del género Leucaena para la alimentación de rumiantes*. Tesis de doctorado en Ciencias Veterinarias, Instituto de Ciencia Animal, Universidad Agraria de La Habana, Cuba.
- MARTÍNEZ, S. J.; PEDRAZA, R. M.; RESÍLLEZ, A.; GUEVARA, G.; GONZÁLEZ, CECILIA y LEÓN, MARLENE (2008). Correlación entre la degradabilidad ruminal *in situ* y la producción de gas *in vitro* con el uso de heces vacunas depuestas como inóculo. *Rev. prod. anim.*, 20 (2), 110-114.
- MARTÍNEZ, S. J. (2005). *Implementación de la técnica de producción de gas in vitro con heces vacunas como inóculo y su empleo para evaluar el follaje de algunas leguminosas arbustivas*. Tesis de maestría en Producción Bovina Sostenible, Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad de Camagüey, Cuba.
- MCDONALD, I. (1981). A Revised Model for the Estimation of Protein Degradability in the Rumen. *J. Sci. Agric. Camb.*, 96, 251-252.
- ØRSKOV, E. R. y MCDONALD, I. (1979). The Estimation of Protein Degradability in the Rumen from Incubation Measurements Weighted According to Rate of Passage. *Journal of Agricultural Science*, 92, 499-503.
- PEDRAZA, R. M. (1998). Use of *in vitro* Gas Production Technique to Assess the Contribution of Both Soluble and Insoluble Fractions on the Nutritive Value of Forages. Tesis de maestría, Universidad de Aberdeen, Escocia.
- POSADA, S. L. y NOGUERA, R. R. (2007). Comparación de modelos matemáticos: una aplicación en la evaluación de alimentos para animales. *Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias*. Extraído en julio de 2007, desde [http://rccp.udea.edu.co/v\\_actual/](http://rccp.udea.edu.co/v_actual/).
- RYMER, C.; HUNTINGTON, J. A.; WILLIAMS, B. A. y GIVENS, D. I. (2005). *In vitro* Cumulative Gas Production Techniques: History, Methodological Considerations and Challenges. *Animal Feed Science and Technology*, 25 (2), 9-30.
- VAN LAAR, H.; VAN STRAALLEN, W. M.; VAN GELDER, A. H.; DE BOEVER, J. L.; D'HEER, B.; VEDDER, H.; KROES, R.; DE BOT, P.; VAN HEES, J. y CONEB, J. W. (2006). Repeatability and Reproducibility of an Automated Gas Production Technique. *Animal Feed Science and Technology*, 27 (2), 133-150.

Recibido: 12-6-2014

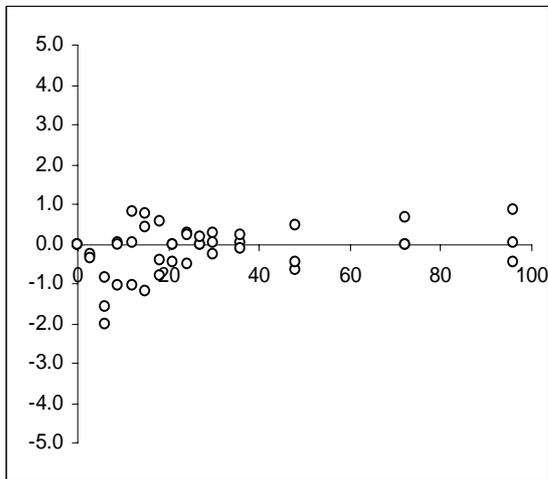
Aceptado: 21-6-2014



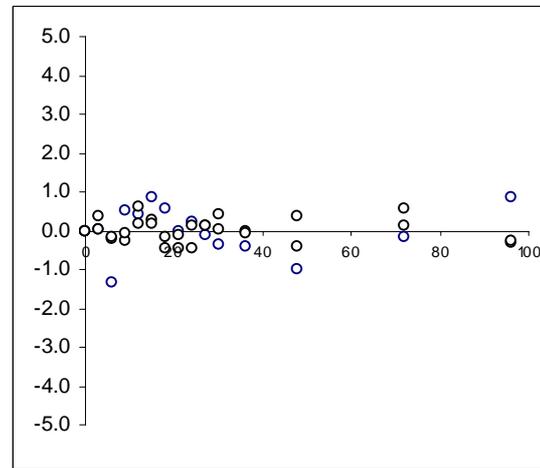
Ørskov y McDonald (1979)



France *et. al.* (2005)



Correa (2004)



Biexponencial

El modelo de Propuesto por McDonald (1981) se comporta de manera idéntica al de Ørskov y McDonald (1979) en lo que a residuales se refiere

**Fig. 1. Residuales de los 4 modelos comparados**

**Tabla 1. Modelos estudiados para mejor ajuste a los datos obtenidos por gas *in vitro* con heces vacunas depuestas**

	Nombre	Modelo	Referencia
1	Ørskov y McDonald (1979)	$V = A + B(1-EXP(-Ct))$	Ørskov y McDonald, (1979)
2	McDonald (1979)	$V = A + B(1-EXP(-C(t-L)))$	McDonald (1981)
3	Correa (2004)	$V = 0$ si $t < L$ $V = B(1-EXP(-Ct))$ si $t \geq L$	Correa (2004)
4	France (2005)	$V = B(1 - EXP(-B'(t-L)-C'(\sqrt{t} - \sqrt{L})))$ $V = B_1(1-EXP(-C_1t))$ si $t \leq L$	France <i>et al.</i> (2005)
5	Biexponencial	$V = A + B(1-EXP(-C(t-L)))$ si $t > L$ En este caso, $A = B_1(1-EXP(-C_1L))$	A partir del sugerido por Posada y Nogueras (2007)

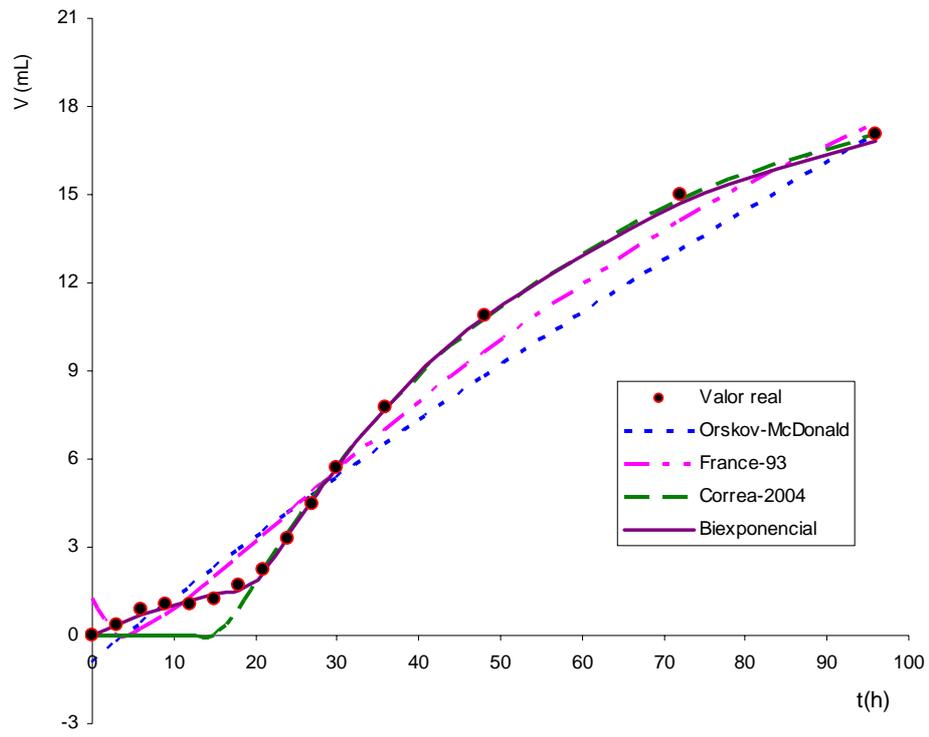
**Tabla 2. Comparación entre modelos para ajustar datos de dinámica de gas *in vitro* con el uso de heces depuestas**

	Modelo	Suma de error al cuadrado	r2	Cuadrado medio del error	Durbin-Watson
1	Ørskov-McDonald (1979)	26,55 <sup>a</sup>	0,9754	2,21	0,554
2	McDonald (1981)	26,55 <sup>a</sup>	0,9754	2,21	0,554
3	Correa (2004)	6,65 <sup>b</sup>	0,9938	0,55	1,174
4	France (2005)	7,80 <sup>b</sup>	0,9898	0,71	1,092
5	Biexponencial	2,99 <sup>b</sup>	0,9977	0,30	1,677
	ES	1,90			
	Significación	< 0,01			

Exponentes distintos indican diferencia significativa para la suma del error al cuadrado

**Tabla 3. Algunos parámetros de producción de gas, para los diferentes modelos, de los forrajes estudiados**

Modelo	Forraje	A (ml)	B (ml)	A+B (ml)	C (h <sup>-1</sup> )	L (h)
Ørskov-McDonald (1979)	<i>L. leucocephala</i>	-3,1	32,9	29,8	0,034	
	<i>G. sepium</i>	-3,2	40,9	37,6	0,033	
	<i>P. maximum</i>	-1,2	61,0	59,9	0,004	
McDonald (1981)	<i>L. leucocephala</i>	0,1	29,9	30,0	0,034	2,80
	<i>G. sepium</i>	3,5	34,5	38,0	0,033	5,08
	<i>P. maximum</i>	0,4	59,5	59,9	0,004	6,83
Correa (2004)	<i>L. leucocephala</i>		27,9	27,9	0,051	6,68
	<i>G. sepium</i>		36,2	36,2	0,041	4,68
	<i>P. maximum</i>		20,3	20,3	0,020	13,82
France (2005)	<i>L. leucocephala</i>		28,0	28,0	0,062	4,20
	<i>G. sepium</i>		35,6	35,6	0,055	3,35
	<i>P. maximum</i>		24,8	24,8	0,017	3,73
Biexponencial	<i>L. leucocephala</i>	2,5	25,5	28,0	0,045	8,39
	<i>G. sepium</i>	4,1	31,8	35,9	0,051	8,28
	<i>P. maximum</i>	1,2	16,7	18,3	0,023	19,75



**Fig. 2. Comparación entre modelos con el uso de *P. maximum***