

Amonificación con urea en la fermentación ruminal *in vitro* del bagazo de caña de azúcar

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

Centro de Estudios para el Desarrollo de la Producción Animal (CEDEPA), Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad de Camagüey, Cuba

RESUMEN

Mediante un diseño de bloque al azar se investigó las mejores condiciones de tiempo de acción y concentración de urea para la amonificación del bagazo de caña de azúcar en la fermentación ruminal *in vitro*. Se trató bagazo durante 0; 10; 15 y 21 días de acción para concentraciones de urea de 2; 4 y 6 %, con tres réplicas para las 12 combinaciones. La variable dependiente fue la producción de gas *in vitro* (ml); se hizo un análisis de varianza de clasificación doble para las 24; 48; 72 y 96 h de incubación, respectivamente. Los resultados demostraron que a los 21 días de acción para todas las combinaciones, excepto para 24 h y 2 %, disminuye significativamente la producción de gas. Esto se relaciona más con afectaciones en la fermentación *in vitro*, que con el aumento real de la digestibilidad. Se comprobó que la producción de gas se puede afectar cuando se utiliza bagazo tratado con alto por ciento de urea, y que después de los 15 días de acción no se encuentran mejoras en la digestibilidad *in vitro* del bagazo amonificado. Se comprobó, además, que las mejores condiciones de tiempo de acción y concentración de urea para la amonificación del bagazo de caña de azúcar corresponden a los 15 días de tratamiento y con concentraciones de urea de 6 %.

Palabras clave: amonificación, fermentación ruminal, tiempo de acción, digestibilidad

Sugarcane Bagasse Ammonification Through *in vitro* Ruminal Fermentation Using Urea

ABSTRACT

A randomized block design was used to study the optimal conditions for urea action time and concentration with regard to sugarcane bagasse ammonification through *in vitro* ruminal fermentation. Urea action on sugarcane bagasse ammonification was determined by treating bagasse with urea concentrations of 2 %, 4 %, and 6 % during 0; 10; 15 and 21 days. Three replicas for 21 combinations were used to this end. *In vitro* gas production (ml) was used as dependent variable. A two-way analysis of variance (ANOVA) was performed at 24 hrs, 48 hrs, 72 hrs, and 96 hrs after the incubation period, respectively. Gas production significantly decreased at the 21 st day of treatment for every combination except for the 24 hrs period of time and 2 % urea concentration. These findings are clearly associated with *in vitro* fermentation influence, not with digestibility actual increase. Findings further support the fact that gas production could be affected by treating bagasse with a high concentration of urea. Besides, *in vitro* digestibility of ammonified bagasse did not improve after 15 days being treated. It was also proved that optimal conditions for urea action time and concentration concerning sugarcane bagasse ammonification were registered with the 15-day treatment and 6 % urea concentration.

Key Words: ammonification, ruminal fermentation, action time, digestibility

INTRODUCCIÓN

La producción animal sólo será sostenible para los países tropicales si se armoniza la producción agrícola, se aprovechan los residuos y se establecen adecuadas prácticas biotecnológicas que permitan mejorar y aprovechar los productos, subproductos y residuos agroindustriales (Elías *et al.*, 1990).

Son tantos los residuos agroindustriales en el mundo que de aprovecharse se contribuiría en gran medida a eliminar el flagelo del hambre a nivel universal. Existen factores que han limitado el éxito del aprovechamiento de los residuos, como:

sus altos costos de recolección y la falta de tecnologías apropiadas para su eficiente empleo (Ramos *et al.*, 2000).

En Cuba, los residuos de la industria azucarera se han utilizado comúnmente, de forma natural o procesada, en la alimentación animal. Pedraza (2007) señala que ni la caña ni sus derivados pueden por sí solos ser un alimento completo para ningún animal; sus limitantes físicas y químicas hacen que se busquen alternativas para mejorar su utilidad. En el país se han desarrollado numerosas investigaciones que han permitido obtener productos enriquecidos proteicamente por fermentación en estado sólido (FES) como la sacararina

(Elías *et al.*, 1990) y el Bagarip (Pedraza *et al.*, 1992). Sin embargo, las tecnologías empleadas en su producción presentan limitaciones que han impedido su comercialización (Julián y Ramos 2008).

El propósito de este trabajo es valorar las mejores condiciones de tiempo de acción y concentración de urea para la amonificación del bagazo de caña de azúcar en la fermentación ruminal *in vitro*.

MATERIALES Y MÉTODOS

El trabajo se realizó en el Laboratorio de Control Agroambiental (LABCA), del Centro de Estudios para el Desarrollo de la Producción Animal (CEDEPA), Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad de Camagüey, Cuba.

Se tomaron aleatoriamente muestras de bagazo fresco de caña de azúcar (*Saccharum* sp) de la casa de bagazo del central azucarero Siboney, en el municipio Sibanicú, provincia Camagüey.

Para el tratamiento de amonificación con urea se añadieron al bagazo, 2, 4 y 6 g de urea por cada 100 g de bagazo seco, respectivamente; la urea se diluyó con agua (corriente) equivalente a 50 % de la materia seca del bagazo.

Se utilizó una bandeja plástica donde se distribuyó el bagazo y fue rociado con la solución de urea; se mezcló manualmente de manera homogénea y el resultado fue colocado en bolsas plásticas, para compactarlo y sacar el aire contenido; se hicieron silos de laboratorio por triplicado, por cada tiempo de acción y para cada tratamiento. Las bolsas se sellaron herméticamente con bandas de gomas y se dejaron en un lugar fresco bajo techo durante los días respectivos para cada tiempo de acción (0; 10; 15 y 21 días). Concluido cada tratamiento, se abrieron las bolsas y su contenido fue secado a 65 °C por 48 h en estufa con circulación forzada de aire, y molidas en molino de martillo con tamiz de 1 mm.

Para evaluar la digestibilidad *in vitro* se realizó una corrida por tiempo de acción con tres réplicas para cada concentración.

Se aplicó un diseño de bloque al azar bifactorial con cuatro niveles del factor tiempo (0; 10; 15 y 21 días) y con tres niveles del factor concentración (2; 4 y 6 %); se utilizaron tres réplicas para las 12 combinaciones posibles. Al análisis de varianza de clasificación doble se aplicó la variable dependiente producción de gas *in vitro* (ml) res-

pectivamente a las 24; 48; 72 y 96 h de incubación.

Para medir la influencia de la proporción mezcla inóculo-buffer con la muestra en la dinámica de producción de gas *in vitro* se realizó un sub-experimento donde se tomaron muestra de bagazo sin tratar y tratado con urea al 6 % con 15 y 21 días de tiempo de acción. Se determinó la producción de gas, se usó una proporción de 300 mg de muestra y 60 ml de inóculo, el doble de inóculo-medio mineral amortiguado con relación al experimento anterior. Se hizo una corrida experimental con tres réplicas por tratamiento.

La determinación de digestibilidad *in vitro* se realizó por el método de producción de gas *in vitro* acorde con Menke y Steingass (1988). Se utilizó como inóculo heces bovinas recién depuestas, disueltas en medio mineral amortiguado en proporción heces-mma (1:3) y el mma se preparó, como describen Martínez *et al.* (2004). En todos los experimentos se pesaron 300 mg de las muestras secas y se colocaron en jeringuillas de cristal calibradas de 100 ml de capacidad (FORTUNA[®], Häberle Labortechnik, Alemania), previamente calentadas a 39 °C y con sus pistones lubricados con vaselina de petróleo.

A cada jeringuilla se le añadieron aproximadamente 30 (± 1) ml de la mezcla inóculo-buffer, excepto en el sub-experimento, y se colocaron en un baño de María a 39 ($\pm 0,5$) °C, en posición vertical y parcialmente sumergidas en el agua; se agitaron cuidadosamente al momento de colocarlas y al realizar las lecturas de su volumen a las 3; 6; 12; 24; 48; 72 y 96 h de incubación. En cada corrida se colocaban de dos a tres jeringuillas solo con la solución inóculo-buffer, que servían como blanco, para corregir la producción de gas por esta solución, y dos jeringuillas que contenían 200 mg de hierba de Guinea (*Panicum maximum*) seca y molida como estándar para corregir las diferencias entre corridas.

Procesamiento de los datos

Los valores de la velocidad de producción de gas (C) y fase lag se determinaron, con la ayuda del programa Microsoft Excel 2010, a partir de la ecuación modificada de Ørskov y McDonald (1979), modificada para considerar la fase lag presente en las determinaciones *in vitro* (Correa, 2004):

$$V = B(1 - e^{-Ct}), V = 0 \text{ si } (t < \text{lag})$$

Donde:

B: es la producción de gas (ml), C la velocidad de producción de gas (ml/h) y lag es el tiempo transcurrido antes de iniciar la producción exponencial de gas (fase lag).

Para procesar los datos primarios de producción de gas se utilizaron hojas de cálculo en Microsoft Excel®, previamente programadas.

Se utilizó el programa Solver de Microsoft Excel® para determinar el mejor ajuste al modelo de Ørskov y McDonald (1979), modificado para considerar la fase lag presente en las determinaciones *in vitro* (Correa, 2004) y los valores de r^2 .

Se analizó la normalidad de los datos. Se determinaron las medias y errores estándar según cada caso. Se realizaron análisis de varianza (ANOVA) simple y doble y se determinaron las diferencias entre medias a partir de la prueba de Tukey para $P < 0,05$. Para el procesamiento estadístico se utilizó el paquete SYSTAT para Windows, versión 11.00.00.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la Tabla 1 se muestra la influencia de la concentración de urea y tiempo de acción en la producción de gas a las 24; 48; 72 y 96 h de incubación, observándose que para las combinaciones tiempo de acción 0 y 2; 4 y 6 % de concentración no difieren entre sí y son las combinaciones de menor producción de gas.

Para todas las combinaciones (tiempo de acción-concentración) que corresponden a las 24, 48, 72 y 96 h de incubación, con la excepción de 2 % a las 24 horas, crece la producción de gas a

medida que aumenta el tiempo de acción y disminuye para los 21 días.

El aumento de la digestibilidad con el tiempo de acción y concentración ha sido reportado por diferentes autores: Blanca, (1987); Alarcón (1989); Rojo *et al.* (2000); Zapata *et al.* (2004); Rodríguez *et al.* (2004) y (Ruiz *et al.* (2006); se consideraron varios tratamientos químicos, como es el caso de la urea y/o con álcalis fuertes; sin embargo, en los resultados presentados en la Tabla 1, a los 21 días de tiempo de acción, en los tratamientos con mayor por ciento de urea, se observa ligera disminución de la producción de gas, lo que parece contradecir los señalamientos de los autores mencionados. Este comportamiento pudiera estar más relacionado con el incremento del amoniaco soluble proveniente del bagazo tratado con mayores concentraciones de urea y con mayor tiempo para que esta se descomponga en amoniaco y se solubilice con la humedad del medio; lo cual, en el sistema *in vitro* empleado, puede inhibir *per se* el desarrollo microbiano por mayor concentración de amoniaco en el medio, y también por elevar el pH en este sistema cerrado con condiciones desfavorables para el desarrollo de los microorganismos del inóculo. Otro efecto del tiempo de acción, aunque se seque el bagazo recién extraído de su silo, es la posible formación de más sales de amonio que liberarán también nitrógeno al sistema *in vitro*, provocando los efectos ya mencionados. Pedraza *et al.* (1993) al amonificar cáscara de arroz, notaron disminución en la degradabilidad ruminal, que atribuyen a la disminución en la di-

gestibilidad, así como a pobre producción de amoniaco por la acción, presumiblemente menor, de la ureasa, según criterio de Crampton y Harris (1974). En este trabajo se hizo evidente la presencia de la ureasa, pues al abrir las bolsas donde se realizó el tratamiento, se percibió un fuerte olor a amoniaco, incluidas las de 21 días de almacenamiento.

Los resultados del subexperimento para 300 mg de muestra y 60 ml de inóculo, se muestran en la Fig. 1.

En todos los casos crece la producción de gas a medida

Tabla 1. Influencia de la concentración de urea y tiempo de acción en la producción de gas a las 24, 48, 72 y 96 h de incubación

Concentración (%)	Horas de incubación	Producción media de gas (ml)				ES	Prob-Sig
		0	10	15	21		
2	24	7,5 ^{ab}	8,7 ^{bd}	7,4 ^{ab}	7,8 ^{ab}	0,51	P<0,01
4		5,2 ^a	11,4 ^c	11,6 ^{ce}	9,2 ^{bc}		
6		5,8 ^a	14,0 ^e	14,1 ^e	10,8 ^{cd}		
2	48	10,9 ^{ab}	12,8 ^{bd}	12,5 ^b	12,1 ^{bc}	0,54	P<0,01
4		9,2 ^a	15,9 ^{ef}	17,6 ^e	14,2 ^{df}		
6		9,4 ^{ac}	18,5 ^{egh}	20,8 ^h	16,6 ^{ef}		
2	72	11,4 ^{ab}	13,2 ^b	14,1 ^{df}	12,9 ^{bf}	0,51	P<0,01
4		10,9 ^{ab}	15,8 ^{cdf}	18,2 ^c	15,1 ^{deg}		
6		10,3 ^a	18,1 ^c	21,3 ^h	17,4 ^{eg}		
2	96	11,3 ^a	13,0 ^{ac}	14,4 ^{bcd}	12,9 ^{ab}	0,55	P<0,01
4		11,7 ^a	15,4 ^{bd}	17,9 ^d	15,1 ^{bcd}		
6		10,6 ^a	17,4 ^d	20,7 ^e	17,3 ^d		

Nota: en cada hora de incubación índices iguales en las filas significa que no difieren entre sí.

que aumentan las horas de incubación, tal y como ha sido reportado en la literatura, de manera que la dinámica de producción de gas del bagazo tratado y sin tratar es similar, y la producción de gas en el bagazo tratado es mayor; sin embargo, no hay prácticamente diferencias entre el bagazo tratado con 15 y 21 días de acción. A diferencia de los resultados en la Tabla 1, para los 21 días de acción, no se observa tal disminución, lo cual confirma que este comportamiento no responde a decrecimiento real de la digestibilidad, sino a la relación de la mezcla inóculo-buffer con la muestra, dada la influencia de la amonificación del bagazo y posible inhibición de la producción de gas por los microorganismos del inóculo al estar en proporciones desventajosas.

Por otra parte la no existencia de diferencias significativas en la producción de gas a partir de los 15 días de acción, significa que no hay mejora sustancial de la digestibilidad.

CONCLUSIONES

Las mejores condiciones para la amonificación del bagazo de caña de azúcar se lograron a los 15 días de tiempo de acción y con concentraciones de urea del 6 %.

Según los resultados del sub-experimento parece demostrar que la disminución en la producción de gas observada para la variante de 21 días de acción, se debe principalmente a los cambios que provoca en el mma y no a disminución de la digestibilidad

Resulta innecesario realizar tratamientos de amonificación del bagazo para tiempos de acción mayores a los 15 días, pues no se observa cambio significativo en la dinámica de la producción de gas y, por tanto, no habrá mejoras apreciables en la digestibilidad.

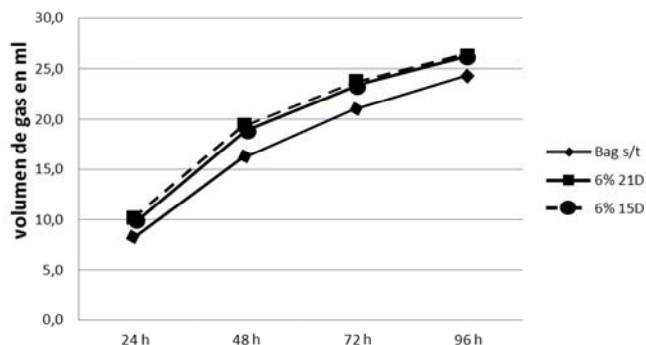


Fig. 1. Producción de gas en ml, respecto al tiempo de incubación, para los tratamientos de tiempo de acción de 15 y 21 días en la concentración de 0 y 6 % de urea

REFERENCIAS

- ALARCÓN, L. J. (1989). Estudio de la degradabilidad ruminal de la cascara de arroz sin tratar, tratada con urea, hidróxido de sodio y vapor. Trabajo de Diploma, Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad de Camagüey, Cuba.
- BLANCA, X. M. (1987). *Comparación de la digestibilidad in vitro de la paja de arroz tratada con hidróxido de sodio y urea al 4 %*. Trabajo de Diploma, Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad de Camagüey, Cuba.
- 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.
- CRAMPTON, E. W. y HARRIS, L. E. (1974). *Nutrición Animal Aplicada* (2^{da} ed., p 263) España: Editorial Acribia.
- ELÍAS, A.; LEZCANO, R.; GARCÍA, R.; PEDROSO, D. M. y GEERKEN, C. (1990). *Producción y utilización de la Saccharina. Nuevo alimento para los animales* (pp. 168-178). Seminario Científico Internacional, XXV Aniversario del ICA, La Habana, Cuba.
- JULIÁN, M. C. y RAMOS, L. B. (2008). *Diseño Tecnológico de una planta para el enriquecimiento proteico del bagazo de caña de azúcar*. Tesis de doctorado en Ciencias Técnicas, Universidad Camagüey, Cuba.
- MARTÍNEZ, S. J.; PEDRAZA, R. M.; GUEVARA, G.; GONZÁLEZ, C. E.; LEÓN, M. y ESTÉVEZ, J. A. (2004). *Empleo de la técnica de producción de gas in vitro, usando líquido ruminal o heces vacunas como inóculo, para evaluar el follaje de dos leguminosas arbustivas*. VI Taller Internacional Silvopastoril "Los árboles y arbustos en la ganadería tropical", Estación Experimental de Pastos y Forrajes "Indio Hatuey", Matanzas, Cuba-Recinto de Exposiciones Expo-Holguín, Holguín, Cuba.
- MENKE, K. H. y STEINGASS, H. (1988). Estimation of the Energetic Feed Value Obtained from Chemical Analysis and *in vitro* Gas Production Using Rumen Fluid. *Animal Research and Development*, 28, 7-55.

ØRSKOV, E. R. y McDONALD, I. (1979). The Estimation of Protein Degradability in the Rumen from Incubation Measurements Weighted According to

Datos originales Fig. 1

Valores medios de la Producción de gas a las diferentes horas de medición

	24 h	48 h	72 h	96 h
Bag s/t	8,2	16,2	21	24,3
6 % 21 D	9,9	19,1	23,6	26,4
6 % 15 D	10,2	19,4	23,7	26,3

- Rate of Passage. *Journal of Agricultural Science, Cambridge*, 92, 499-503.
- PEDRAZA, R. M.; CRESPO, L. M.; RAMOS, L. B. y MARTÍNEZ, S. J. (1992). *Bagazo rico en proteína (BAGARIP): alimento para animales obtenidos por FES derivados de la caña de azúcar*, Seminario Científico Internacional, XXX Aniversario del Instituto de Ciencia Animal, La Habana, Cuba.
- PEDRAZA, R. M. (2007). *Potencial de la caña de azúcar*. Evento CYTED 07, Ciego de Ávila, Cuba.
- PEDRAZA, R. M.; VILA, M. y ALARCÓN, L. J. (1993). Degradabilidad ruminal de la cáscara de arroz tratada con hidróxido de sodio, urea o vapor. *Revista de Producción Animal*, 7 (3).
- RAMOS, L. B.; PARRA, C. y GARCÍA, A. (2000). Formulación de medios de cultivo con residuos agroindustriales. *Rev. Bibliográfica Centro Azúcar*, 27 (1).
- ROJO, R.; MENDOZA, G. D.; GARCÍA, C. M.; BÁRCENA, J. R. y ARANDA, E. M. (2000). Consumo y digestibilidad de pastos tropicales en toretes con suplementación nitrogenada y *Saccharomyces cerevisiae*. *Rev. Fac. Agron. (LUZ)*, 17, 358
- RUIZ, O.; CASTILLO, Y.; AGUILERA, J. I.; ARZOLA, C.; RODRÍGUEZ, C.; JIMÉNEZ, J. A. y RUBIO, H. (2006). Cascarilla de avena tratada con urea y un aditivo enzimático en el consumo, la digestibilidad y la cinética ruminal de novillos. *Revista Cubana de Ciencias Agrícolas*, 40 (4), 43-438
- RODRÍGUEZ, N.; ARAUJO, O. y GONZÁLEZ, B. (2004). Efecto de la adición de urea sobre la composición química y digestibilidad *in vitro* de la materia seca de heno de *Brachiaria humidicola* (Rendle) Schweick cosechado a diferentes edades. *Arch. Latinoam. Prod. Anim.*, 12 (2), 52-58.
- ZAPATA, C.; OBISPO, N. E. y DÍAZ, Y. (2004). Efecto de la sustitución parcial de la proteína de la dieta por urea sobre el consumo voluntario de materia seca y respuesta productiva de corderos. *Zootecnia Trop.*, 22, 29.

Recibido: 15-7-2011

Aceptado: 13-9-2011