



## Evaluación de la vaina de cubato (*Acacia cochliacatha*) y fruto de guásimo (*Guazuma ulmifolia*) mediante la técnica de producción de gas *in vitro*

Socorro Muñoz-López<sup>1</sup> , Paulino Sánchez-Santillán<sup>1</sup> , Luis A. Saavedra-Jiménez   
María B. Bottini-Luzardo 

Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia No. 2. Universidad Autónoma de Guerrero.,  
Cuajinicuilapa, Guerrero, México.

### Evaluation of the cubato (*Acacia cochliacatha*) pod and guásimo (*Guazuma ulmifolia*) fruit using the *in vitro* gas production technique

**Abstract.** In order to evaluate the fermentative traits of the cubato pod and guásimo fruit by the *in vitro* gas technique, samples of 0.5 g of guásimo fruits and cubato pods were incubated with 40 mL of culture medium under a continuous flow of CO<sub>2</sub> at 39 °C for 72 h, where they were inoculated with 10 mL of fresh rumen fluid obtained from a bovine fed with pangola grass. Biogas production was measured at 0, 2, 4, 6, 8, 10, 12, 24, 48, and 72 h. Biogas production kinetics estimators were determined using the Gompertz model. Methane production was measured at 24, 48 and 72 h of incubation, subsequently, the pH of the medium and dry matter degradation were measured. The variables were analyzed as a completely randomized design and the mean values were compared with Tukey's test. Biogas production showed a difference in the first 2 h of incubation ( $p < 0.05$ ). The estimators of the fermentation kinetics showed a difference in the microbial efficiency ( $p < 0.05$ ), where the guásimo fruit was 17% lower than the cubato pod. Methane production did not present differences ( $p > 0.05$ ). The culture medium was 2.2% more acidic where guásimo was used as substrate compared to the medium with cubato pod ( $p < 0.05$ ). The dry matter degradation of the guásimo fruit was 50.3% higher than the cubato pod ( $p < 0.05$ ). The cubato pod and guásimo fruit have desirable *in vitro* fermentative traits for their use in ruminant feed.

**Keywords:** animal feed, biogas, fermentation kinetics, legumes

**Resumen.** Con el objetivo de evaluar las características fermentativas, usando la técnica de producción de gas *in vitro*, de vaina de cubato y fruto de guásimo, se incubaron 0.5 g de frutos de guásimo y vainas de cubato con 40 mL de medio de cultivo bajo flujo continuo de CO<sub>2</sub> a 39 °C durante 72 h, se inocularon con 10 mL de fluido ruminal fresco obtenido de un bovino alimentado con pasto pangola. La producción de biogás se midió a las 0, 2, 4, 6, 8, 10, 12, 24, 48 y 72 h. Los estimadores de cinética de producción de biogás se determinaron con el modelo de Gompertz. La producción de metano se midió a las 24, 48 y 72 h de incubación, posteriormente se midió pH del medio y degradación de materia seca. Las variables se analizaron en un diseño completamente al azar y los valores promedios se compararon con la prueba de Tukey. La producción de biogás mostró diferencia en las primeras 2 h de incubación ( $p < 0.05$ ). Los estimadores de cinética de fermentación mostraron diferencia en el factor constante de degradación microbiana ( $p < 0.05$ ), donde el fruto de guásimo fue 17% menor que la vaina de cubato. La producción de metano no presentó diferencias ( $p > 0.05$ ). El medio de cultivo donde se usó guásimo fue 2.2% más ácido que el medio con cubato ( $p < 0.05$ ). La degradación de fruto de guásimo fue 50.3% mayor que la vaina de cubato ( $p < 0.05$ ). La vaina de cubato y fruto de guásimo presentan características fermentativas *in vitro* deseables para su uso en la alimentación de rumiantes.

**Palabras claves:** alimentación animal, biogás, cinética de fermentación, leguminosas

<sup>1</sup> Autores de correspondencia: [19438452@uagro.mx](mailto:19438452@uagro.mx) ; [sanchezsantillanp@gmail.com](mailto:sanchezsantillanp@gmail.com)

## Avaliação da vagem do cubato (*Acacia cochliacatha*) e do fruto guásimo (*Guazuma ulmifolia*) pela técnica de produção de gás *in vitro*

**Resumo.** Com o objetivo de avaliar as características fermentativas, pela técnica de produção de gases *in vitro*, de vagens de cubato e guásimo, incubaram-se 0,5 g de frutos de guásimo e vagens de cubato com 40 mL de meio de cultura sob fluxo contínuo CO<sub>2</sub> a 39 °C por 72 h, foram inoculados com 10 mL de fluido ruminal fresco obtido de um bovino alimentado com capim pangola. A produção de biogás foi medida em 0, 2, 4, 6, 8, 10, 12, 24, 48 e 72 h. Os estimadores da cinética de produção de biogás foram determinados com o modelo de Gompertz. A produção de metano foi medida em 24, 48 e 72 h de incubação, posteriormente o pH do meio e a degradação da matéria seca foram medidos. As variáveis foram analisadas em delineamento inteiramente casualizado e os valores médios foram comparados com o teste de Tukey. A produção de biogás apresentou diferença nas primeiras 2 horas de incubação ( $p < 0,05$ ). Os estimadores da cinética de fermentação mostraram diferença no fator constante de degradação microbiana ( $p < 0,05$ ), onde o fruto guásimo foi 17% menor que a vagem cubato. A produção de metano não apresentou diferenças ( $p > 0,05$ ). O meio de cultivo onde foi utilizado o guásimo foi 2,2% mais ácido que o meio com cubato ( $p < 0,05$ ). A degradação do fruto guásimo foi 50,3% maior que da vagem cubato ( $p < 0,05$ ). A vagem cubato e o fruto guásimo apresentam características fermentativas *in vitro* desejáveis para seu uso na alimentação de ruminantes.

**Palavras-chave:** ração animal, biogás, cinética de fermentação, leguminosas

### Introducción

La biodiversidad del estado de Guerrero ofrece innumerables recursos nutritivos para la alimentación animal. Las vainas de leguminosas son fuente de nutrientes y se pueden utilizar en la alimentación de rumiantes, ya que permiten reducir el uso de concentrados en las explotaciones pecuarias (Delgado *et al.*, 2014). El cubato (*Acacia cochliacatha*) es una leguminosa distribuida en la selva baja caducifolia, alcanza hasta 4.5 m de alto, su fruto es una vaina aplanada de hasta 17 cm de largo que no abre. Se ha reportado el uso como forrajes, de la vaina y hojas (Hernández-Morales *et al.*, 2018). El guásimo (*Guazuma ulmifolia*) es un árbol melífero con gran capacidad forrajera, es soporífero y los frutos tienen propiedades antifúngicas, desinflamatorias y febrífugas entre otras.

Pertenece a la familia de la Esterculiáceas. Los árboles alcanzan hasta 25 m de altura y hasta 70 cm de diámetro (Sibaja *et al.*, 2015).

La técnica de producción de gas *in vitro* ya sea basada en mediciones de volumen o presión, se estableció inicialmente para la evaluación de la tasa y el grado de fermentación de alimentos para rumiantes. El uso de la técnica *in vitro* constituye una alternativa para reducir los gastos de mano de obra, costo y tiempo de los ensayos *in vivo*; son fácilmente reproducibles y altamente correlacionadas con parámetros *in vivo* (Amanzougarene y Fondevila, 2020). Por tanto, el objetivo de la presente investigación fue determinar las características fermentativas *in vitro* de la vaina de cubato y fruto de guásimo.

### Materiales y Métodos

#### Lugar de estudio

El estudio se realizó en el laboratorio de Nutrición Animal de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia No. 2, de la Universidad Autónoma de Guerrero (UAGro).

#### Muestras

Para el presente estudio se recolectaron frutos de guásimo (*G. ulmifolia*) y vainas de cubato (*A. cochliacatha*), fisiológicamente maduras, en el municipio de Cuajinicuilapa, Guerrero. Por cada especie, se seleccionaron 2 árboles y se recolectaron 2.5 kg de vainas o fruto. Posteriormente se hizo una muestra compuesta de los 2 árboles. Las vainas y frutos se depositaron en bolsas de papel y se trasladaron al Laboratorio de Nutrición Animal. Las muestras recolectadas se deshidra-

taron a una temperatura de 60 °C hasta peso constante en una estufa (RIOSSA® HCF-41, México), se molieron en un molino de martillos (M.A.GRO®TR-3500) y por último se molieron en un molino portátil (Estrella, México).

#### Producción de gas *in vitro*

Se utilizaron viales serológicos (120 mL) como biodigestores, al cual se añadieron 0.5 g de muestra, 40 mL de medio de cultivo (50.9% de agua destilada, 30.0% de fluido ruminal clarificado, 5.0% de solución mineral 1, 5.0% solución mineral 2, 5.0% de solución buffer, 0.1% de resazurina 0.1% y 4.0% de solución reductora) y 10 mL de fluido ruminal fresco. La elaboración de los biodigestores fue bajo flujo continuo de CO<sub>2</sub> para

mantener condiciones de anaerobiosis. Los viales se sellaron con un tapón de neopreno y un arillo de aluminio con centro removible. Los biodigestores se colocaron en la incubadora a 39 °C. El fluido ruminal fresco se obtuvo de un bovino provisto de cánula ruminal alimentado previamente en praderas con pasto pangola. El bovino se manejó de acuerdo con el reglamento interno de bioética y bienestar animal de la UAGro con fundamento de las normas oficiales (NOM-062-ZOO-1999).

La producción de biogás se midió mediante el desplazamiento del émbolo de una jeringa de vidrio (50 mL; BD Yale®, Brasil). El biogás se midió a las 0, 2, 4, 6, 8, 10, 12, 24, 48 y 72 h de incubación. Los estimadores de cinética de producción de biogás se determinaron con el modelo Gompertz (Lavrenčič *et al.*, 1997). Los estimadores  $A$  (fracción total potencialmente degradable),  $k$  (tasa de degradación relativa) y  $b$  (factor constante de degradación microbiana) se estimaron con un análisis de regresión no lineal, utilizando el procedimiento NLMIXED de SAS v.9.4 (SAS, 2013).

La producción de metano (CH<sub>4</sub>) se midió con base en la metodología propuesta por Stolaroff *et al.* (2008) y modificada por Torres-Salado *et al.* (2018). Las mediciones se realizaron con una manguera Taygon® (2.38 mm Ø interno y 45 cm de longitud) con agujas hipodérmicas (20 G x 32 mm) en los extremos acopladas a un biodigestor con vial trampa. El vial trampa se colocó

de manera inversa en una probeta modificada que sirvió para colectar la solución de NaOH (2N) desplazada por el CH<sub>4</sub> producido durante la incubación mediante una aguja hipodérmica colocada como válvula de salida. La producción de metano se cuantificó mediante el desplazamiento de la solución NaOH (2N) contenida en los viales trampa; dado que el CO<sub>2</sub> reacciona con el NaOH (2N) formando Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (Prada-Matiz y Córtes-Castillo, 2011). La producción de metano se reportó a las 24, 48 y 72 h.

A las 72 h de incubación se determinó: pH del medio (Hanna® HI2211, Italia; calibración pH 7 y 4). Para obtener la degradación de la materia seca (DMS), la muestra residual del biodigestor se filtró usando bolsas ANKOM® previamente secadas para peso constante. Las bolsas con muestra se secaron a 60 °C por 24 h en una estufa (RIOSSA® HCF-41, México). La degradación se calculó como: % DMS = (muestra inicial – muestra residual / muestra inicial) \* 100 (Sánchez-Santillán *et al.*, 2015).

#### Análisis estadístico

Las variables (diferentes tiempos de fermentación de producción de biogás a las 12, 24 y 36 h, pH, DMS y los estimadores de cinética de fermentación) se analizaron en un diseño completamente al azar. Los datos se analizaron con el procedimiento GLM de SAS v.9.4 (SAS, 2013). Los valores promedio se compararon con la prueba de Tukey ( $p < 0.05$ ).

## Resultados

Se observó diferencia ( $p < 0.05$ ) en la producción de biogás del fruto de guásimo y vaina de cubato únicamente en las primeras 2 h de incubación; a partir de las 4 h de incubación no se observó diferencias entre la vaina de cubato y el fruto de guásimo ( $p > 0.05$ ; Figura 1).

No se observaron diferencias en la producción acumulada de metano entre la vaina de cubato y fruto de guásimo a las 24, 48 y 72 h ( $p > 0.05$ ). El medio de cultivo donde se usó guásimo como sustrato fue 2.2% más ácido que el medio con vaina de cubato como sustrato ( $p < 0.05$ ).

La degradación de fruto de guásimo fue 50.3% mayor que la vaina de cubato ( $p < 0.05$ ). Los estimadores de la cinética de fermentación indicaron que  $A$  y  $c$  no

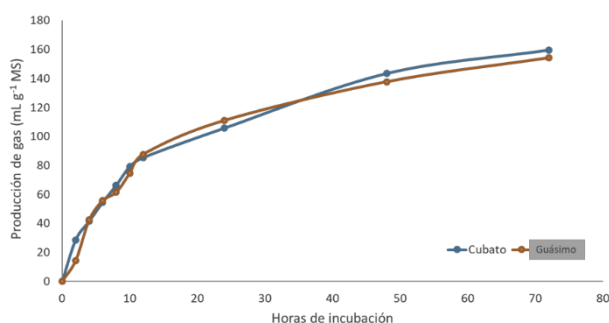


Figura 1. Producción acumulada de biogás *in vitro* de vaina de cubato y fruto de guásimo.

mostraron diferencias ( $p > 0.05$ ); mientras que, en  $b$ , el fruto de guásimo fue 17% menor que vaina de cubato ( $p < 0.05$ ; Tabla 1).

**Tabla 1.** Características de fermentación *in vitro* de vaina de cubato y fruto de guásimo

Muestra	Metano acumulado (mL g <sup>-1</sup> MS)			pH	DMS (%)	Cinética fermentación		
	24 h	48 h	72 h			<i>A</i> (mL g <sup>-1</sup> MS)	<i>k</i> (% h <sup>-1</sup> )	<i>b</i> (h)
Cubato ( <i>Acacia cochliacatha</i> )	16.2	19.1	23.8	6.4 <sup>a</sup>	28.0 <sup>b</sup>	149.1	2.4 <sup>a</sup>	0.1
Guásimo ( <i>Guazuma ulmifolia</i> )	17.0	19.3	19.3	6.3 <sup>b</sup>	42.2 <sup>a</sup>	143.4	2.0 <sup>b</sup>	0.1
EEM	1.3	1.6	1.7	0.0	3.7	4.1	0.1	0.0

<sup>a,b</sup> Promedios con letra diferente en una misma columna son estadísticamente diferentes ( $p < 0.05$ ). pH = potencial de hidrógeno; DMS = degradación de la materia seca; EEM = error estándar de la media; *A* = potencial de producción de biogás total; *k* = tasa constante de producción de biogás del material potencialmente degradable; *b* = tiempo lag o eficiencia microbiana.

## Discusión

La producción de biogás es un indicativo de la fermentación de los carbohidratos disponibles para la microbiota ruminal (Amanzougarene y Fondevila, 2020); el cual se divide principalmente en 2 gases: CO<sub>2</sub> y CH<sub>4</sub>. El CH<sub>4</sub> es producto del metabolismo de microorganismos metanogénicos (*archaeas*). Su producción se puede ver disminuida por la acción de los metabolitos secundarios presentes en la vaina de cubato y fruto de guásimo (Portadela-Díaz *et al.*, 2018). Para el presente estudio, la producción de CH<sub>4</sub> representó 16, 13 y 15% del total de biogás producido por la vaina de cubato; mientras que en el fruto de guásimo representó 15,

14 y 12% del total de biogás. Incluso, se han reportado valores superiores (Torres-Salado *et al.*, 2018) de la proporción de CH<sub>4</sub> respecto al total de biogás producido en fruto de guásimo y vaina de cubato.

Hernández-Morales *et al.* (2018) publicaron valores superiores de DMS en vaina de cubato (36.7%) y fruto de guásimo (49.9%) en comparación con lo obtenido en el presente estudio. Así mismo, Torres-Salado *et al.* (2018) publicaron estimadores de cinética de gas inferiores al presente estudio en ambos tipos de muestras.

## Conclusiones

La vaina de cubato y fruto de guásimo presenta características fermentativas *in vitro* deseables para su uso en la alimentación de rumiantes; pero requiere estudios

de consumo para establecer si presenta limitantes por su contenido de metabolitos secundarios.

## Agradecimientos

Al Cuerpo Académico UAGro-CA-183 Producción Sustentable de Rumiantes en el Trópico por el

financiamiento para el desarrollo del presente estudio

**Conflicto de interés:** Los autores declaran que no existe conflicto de intereses.

## Literatura Citada

- Amanzougarene, Z., and Fondevila, M. 2020. Fitting of the *in vitro* gas production technique to the study of high concentrate diets. *Animals*, 10(10), Art. 10. <https://doi.org/10.3390/ani10101935>
- Delgado, D. C., Hera, R., Cairo, J., y Orta, Y. 2014. Samanea saman, árbol multipropósito con potencialidades como alimento alternativo para animales de interés productivo. *Revista Cubana de Ciencia Agrícola*, 48(3), Art. 3.
- Hernández-Morales, J., Sánchez-Santillán, P., Torres-Salado, N., Herrera-Pérez, J., Rojas-García, A. R., Reyes-Vázquez, I., y Mendoza-Núñez, M. A. 2018. Composición química y degradaciones *in vitro* de vainas y hojas de leguminosas arbóreas del trópico seco de México. *Revista Mexicana de Ciencias Pecuarias*, 9(1), Art. 1. <https://doi.org/10.22319/rmcp.v9i1.4332>
- Laurenčić, A., Stefanon, B., and Susmel, P. 1997. An evaluation of the Gompertz model in degradability studies of forage chemical components. *Animal Science*, 64(3), Art. 3. <https://doi.org/10.1017/S1357729800016027>
- Prada-Matiz, A. y Córtes-Castillo, C. E. 2011. Experiencias en la captura de los gases de combustión de la cascarilla de arroz con soluciones alcalinas. *Orinoquia*, 15: 16-30.
- Portela-Díaz, D. F., Torres-Salado, N., Ayala-Monter, M. A., Herrera-Pérez, J., y Sánchez-Santillán, P. 2022. Uso de vainas de fabáceas arbóreas tropicales en la mitigación de metano entérico. En G. J. M. Palma, R. J. A. Torres, y V. E. Valdéz (Eds.), *Tecnologías agroforestales para la adaptación y mitigación al cambio climático. Opciones y perspectivas* (Vol. 1, pp. 153-163). Universidad de Colima. 10.53897/LI.2022.0011.UCOL



- SAS [Statistical Analysis Software]. 2013. Users' Guide Statistics Version 9.4. SAS Institute Inc., Cary.
- Sánchez-Santillán, P., Meneses-Mayo, M., Miranda-Romero, L. A., Santellano-Estrada, E., Alarcón-Zúñiga, B. 2015. Actividad fibrolítica y producción de gas por *Pleurotus oestrus*-IE8 y *Gomer fomentarius*-EUM1 en bagazo de caña. *MVZ-Córdoba*, 20(supl): 4907-4916. Statistical Analysis System [SAS]. (2013). SAS/STAT User's Guide (Release 9.4). SAS Institute Inc.
- Sibaja, R. H., Sotelo, E. S. S., y Juárez, O. G. 2015. Viabilidad de la extracción de gomas de *Acacia cochliacantha* y *Acacia farnesiana* en el Estado de Guerrero. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 2, 155-162.
- Stolaroff, J. K., Keith, D. W., and Lowry, G. V. 2008. Carbon dioxide capture from atmospheric air using sodium hydroxide spray. *Environmental Science & Technology*, 42(8), 2728-2735. <https://doi.org/10.1021/es702607w>
- Torres-Salado, N., Sánchez-Santillán, P., Rojas-García, A. R., Herrera-Pérez, J., y Hernández-Morales, J. 2018. Producción de gases efecto invernadero *in vitro* de leguminosas arbóreas del trópico seco mexicano. *Archivos de Zootecnia*, 67(257), Art. 257. <https://doi.org/10.21071/az.v67i257.3491>