

EFFECTO DE CENIZAS PROCEDENTES DE LA OBTENCIÓN DE ENERGÍA RENOVABLE A PARTIR DE BIOMASA RESIDUAL SOBRE LA FERMENTACIÓN RUMINAL IN VITRO DE DIETAS BASADAS EN HENO DE ALFALFA

Romero-Huelva, M, Martín-García, A. I., Nogales, R. y Molina-Alcaide, E.
Estación Experimental del Zaidín (CSIC), Profesor Albareda, 1, 18008 Granada
manuel.romero@eez.csic.es

INTRODUCCIÓN

El 50% de las energías alternativas o renovables son producidas en plantas de biomasa (PER 2005-2010). El Plan Energético Europeo, aprobado en el año 2008, y el Plan Nacional de Energías Renovables para el periodo 2005-2010, tienen como objetivo el fomento de este tipo de energías. Las plantas de biomasa generan grandes cantidades de cenizas, entre 2,5-5-% por MS de biomasa procesada (García Almiñana y Solé Xam-mar, 2005). Su utilización es escasa y su almacenamiento genera problemas medioambientales y económicos. El empleo de cenizas para la elaboración de mezclas mineralvitamínicas para el ganado podría no solo contribuir al reciclado de las mismas sino también a la reducción del coste de la alimentación del ganado. El objetivo de este trabajo es valorar el efecto de la adición de cenizas, provenientes de la generación de energías renovables a partir de distintos tipos de biomasa residual, sobre la fermentación ruminal *in vitro* de dietas prácticas para rumiantes.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se empleó un sistema *in vitro* de cultivo no renovado de microorganismos ruminales (Theodorou et al., 1994). Las dietas experimentales estaban constituidas por heno de alfalfa (dieta HA) y una mezcla (70:30 en base a materia orgánica) de HA y concentrado compuesto de cebada y habas (5:3) (dieta HAC). Las cenizas estudiadas procedían de plantas de incineración de residuos de la madera (ENCE, Huelva y TRADEMA, Jaén); subproductos del olivar (EL TEJAR, Córdoba y LA LOMA, Jaén) y desechos de invernaderos (ALBAIDA, Almería). Se realizaron dos períodos idénticos de incubación, cada uno con dos series de incubación de 24 y 72 h. En botellas de vidrio de 120 ml se incubaron, por triplicado, 500 mg de materia orgánica de la dieta experimental correspondiente sin cenizas o con 10 mg de cada tipo de cenizas. El primer día de cada serie de incubación, cada botella se inoculaba con 50 ml de una mezcla (1:4 vol:vol) de líquido ruminal y una solución tampón (Goering y van Soest, 1970). El contenido del rumen se obtuvo antes de la primera toma de alimento del día de tres cabras de raza granadina ($46,9 \pm 2,15$ kg PV) dotadas de cánula ruminal, se mezcló y se filtró, de acuerdo con el protocolo de Theodorou et al. (1994). Se midió la presión y el volumen de gas producido a las 2, 4, 6, 8, 12, 24, 48 y 72 horas tras la inoculación. Al final de las series de incubación de 24 y 72 horas se tomaron muestras de gas para determinar su concentración en CH₄, se abrieron las botellas, se midió el pH del contenido y se detuvo la fermentación introduciendo las botellas en hielo. A continuación, se tomaron alícuotas para la determinación de ácidos grasos volátiles (AGV) y amonio como se describe en Cantalapiedra et al. (2009). La producción de gas se ajustó al modelo de France et al. (2000): $y = A [1 - e^{-ct}]$ donde y representa la producción acumulada de gas (ml), t el tiempo de incubación (h), A la asíntota (gas total, ml) y c es la tasa de producción de gas (h⁻¹). La composición mineral de las cenizas se analizó mediante espectrofotometría de absorción atómica (Perkin Elmer HGA500, EE.UU.). El contenido en carbono y nitrógeno de las cenizas se determinó en Leco TruSpec CN (St. Joseph, MI, EE.UU.). La concentración de N-NH₃ se determinó colorimétricamente siguiendo la metodología descrita por Weatherburn (1967). La concentración en AGV se determinó mediante cromatografía gaseosa, según la técnica descrita por Isac et al. (1994). La concentración de CH₄ en el gas producido se analizó mediante cromatografía gaseosa. El análisis estadístico de los datos experimentales se realizó siguiendo un modelo univariante del procedimiento GLM del programa SPSS 15.0[®]. Las diferencias entre medias fueron analizadas empleando el test de Bonferroni.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La composición en minerales de las cenizas empleadas aparece en la Tabla 1. Se observan importantes diferencias entre las distintas cenizas, sobre todo, en cuanto a las concentraciones de Ca, Mg y K (macrominerales) y de Fe, Mn, Cu y Pb (microminerales). El tipo de ceniza y la adición de estas no afectaron ($P > 0,2$) a los valores de pH, concentración de amonio, gas producido, concentración de metano, A y c y producción de AGV tras 24 horas de incubación de las dietas (Tabla 2). Varadyová et al. (2007) tampoco observaron diferencias significativas en los valores de AGV al añadir cenizas volcánicas a la dieta, aunque sí encontraron un aumento en la producción de gas y la concentración de CH_4 . Las diferencias observadas entre nuestros datos y los de Varadyová et al. (2007) podrían deberse a diferencias en la cantidad y tipo de minerales adicionados o en las características del líquido ruminal empleado como inóculo (Molina et al., 1997). La ausencia de diferencias significativas en los resultados de concentración de amonio obtenidos, nos indica que no existen diferencias en la degradabilidad de las proteínas y/o incorporación de N-NH_3 por parte de los microorganismos ruminales. Las concentraciones de N-NH_3 obtenidas tras 24 h de incubación se encontraron dentro del rango óptimo para el crecimiento microbiano (Mehrez et al., 1997) probablemente debido a que la solución tampón empleada (Goering y Van Soest, 1970) estaba enriquecida con N-NH_3 . La dieta afectó significativamente a los valores de pH, c, producción de ácido acético y producción de gas a las 24 h ($P = 0,036$; $0,044$; $0,039$; $0,021$, respectivamente). Los valores de A obtenidos son mayores que los observados por Khelil (2008) empleando dietas de buena calidad, probablemente debido al uso de una metodología distinta a la que se ha seguido en el presente trabajo para la preparación del inóculo ruminal. El procedimiento de Theodorou et al. (1994), empleado en este trabajo, probablemente permite la presencia de comunidades microbianas más diversas y numerosas en el inóculo, tanto de las asociadas a fibra como libres. Sin embargo, los valores de c observados en nuestro trabajo son similares a los encontrados por Khelil (2008). Las concentraciones de CH_4 obtenidas se encontraban en el rango de los valores observados por Jayanegara et al. (2008) para dietas similares y utilizando el mismo sistema *in vitro*. El hecho de que no hayan aparecido interacciones ceniza \times dieta significativas ($P > 0,1$) indica que la ausencia de efectos de la adición de cenizas es independiente de la dieta empleada (HA o HAC).

La adición de cenizas de distinto origen no produce efectos significativos sobre los parámetros de fermentación de las dietas estudiadas. No obstante, sería necesario estudiar la biodisponibilidad de los minerales, así como los efectos beneficiosos y adversos que puedan derivarse, tanto para los microorganismos ruminales como para el animal.

Tabla 1. Composición de las cenizas empleadas

	g/kg	C	N	P	K	Ca	Mg	Na	C/N
ENCE		82,1	0,36	1,69	27,7	147	20,6	5,48	228
TRADEMA		18,4	0,195	1,02	6,40	63,7	9,73	2,42	97
TEJAR		-	0,07	9,16	23	98	43,3	5,98	-
LOMA		24,2	1,13	4,17	57,8	52,2	15,1	2,83	21
ALBAIDA		63,9	2,01	2,66	30,7	60,8	18,1	8,23	32
	mg/kg	Fe	Mn	Cu	Zn	Cd	Ni	Pb	B
ENCE		6.290	4.635	48	110	<0,2	52	6	220
TRADEMA		16.594	386	247	2064	<0,2	52	432	205
TEJAR		28.767	565	113	218	-	-	-	-
LOMA		6.283	172	181	274	<0,2	30	67	560
ALBAIDA		9.760	369	88	169	<0,2	14	2	176

Tabla 2. Efecto de la adición de distintos tipos de cenizas y de la dieta sobre los valores medios de pH, concentración de amonio, producción de gas, concentración de metano, producción total de gas (A), tasa de producción de gas (c) y producción de AGV tras 24 horas de incubación

	Ceniza ¹						Dieta		P-valor ²			EEM ³
	0	1	2	3	4	5	HA	HAC	Cz	D	CzxD	
pH	6,72	6,75	6,74	6,74	6,74	6,73	6,75	6,72	0,408	0,036	0,371	0,01
NH ₄ , mg/100 ml	29,5	29,9	30,6	28,7	28,7	29,6	28,2	30,8	0,742	0,490	0,409	0,33
Producción gas, ml	103	102	101	100	101	101	97	106	0,453	0,021	0,679	0,97
Prod. gas, ml/g MO	206	203	203	200	202	203	194	211	0,518	0,025	0,728	1,3
CH ₄ , ml/100 ml gas	18,6	17,6	18,0	17,8	17,3	17,7	17,9	17,8	0,732	0,656	0,375	0,24
A, ml	127	125	125	125	124	125	115	135	0,201	0,068	0,800	1,4
c, h ⁻¹	0,071	0,071	0,071	0,069	0,072	0,072	0,078	0,064	0,795	0,044	0,556	0,001
AGVs totales, mmol/d	2,11	2,09	2,09	2,08	2,20	2,13	2,12	2,11	0,922	0,928	0,376	0,03
C2, mmol/100 mol	64,2	64,0	64,2	64,4	64,1	64,3	65,8	62,6	0,937	0,039	0,364	0,02
C3, mmol/100 mol	21,7	21,8	21,7	21,8	21,8	21,7	21,9	21,6	0,915	0,715	0,388	0,01
iC4, mmol/100 mol	0,86	0,85	0,85	0,82	0,85	0,84	0,83	0,86	0,833	0,658	0,428	0,001
C4, mmol/100 mol	10,0	10,1	10,0	9,78	10,1	10,0	8,22	11,8	0,768	0,092	0,388	0,005
iC5, mmol/100 mol	1,29	1,29	1,24	1,23	1,23	1,25	1,22	1,29	0,940	0,563	0,332	0,001
C5, mmol/100 mol	1,93	1,98	1,94	1,93	1,94	1,92	1,98	1,90	0,757	0,479	0,508	0,001
Acético/propiónico	2,97	2,95	2,98	2,97	2,95	2,97	3,00	2,93	0,871	0,591	0,172	0,02

¹0: sin cenizas, 1: ENCE, 2: TRADEMA, 3: TEJAR, 4: LOMA, 5: ALBAIDA; ²Cz: ceniza, D: dieta, CzxD: interacción ceniza × dieta. ³EEM: error estándar de la media (n=72).

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Cantalapiedra-Hijar, G., Yáñez-Ruiz, D., Martín-García, A. I. & Molina-Alcaide, E. 2009. *J. Anim. Sci.* 87:622-631.
- García Almiñana, D. & Solé Xam-mar, C. 2005. <https://upcommons.upc.edu/revistes>.
- France, J., Dijkstra, J., Dhanoa, M. S., López, S. & Bannink, A. 2000. *Br. J. Nutr.* 83:143-150.
- Goering, M. K. & van Soest, P. J. 1970. *Agric. Handbook*. Nº 379.
- Isac, M. D., García, M. A., Aguilera, J. F. & Molina Alcaide, E. 1994. *Arch. Tierernahr.* 46:37-50.
- Jayanegara, A., Togtokhbayar, N., Makkar, H. P. S. & Becker, K. 2008. *Anim. Feed. Sci. Technol.* doi:10.1016/j.anifeedsci.2008.10.011.
- Khelil, H. 2008. Master's thesis. • Mehrez, A.L., Orskov, E.R. & McDonald, I. 1977. *Br. J. Nutr.* 38: 437-443.
- Molina Alcaide, E., García, M. A. & Aguilera, J. F. 1997. *Livest. Prod. Sci.* 52:39-47.
- Theodorou, M. K., Williams, B. A., Dhanoa, M. S., McAllan, A. B. & France, J. 1994. *Anim. Feed Sci. Technol.* 48:185-197.
- Varadyová, Z., Styriaková, I. & Kisidayová, S. 2007. *Small Ruminant Res.* 73:58-66.
- Weatherburn, M. W. 1967. *Anal. Chem.* 39:971-974.

Agradecimientos: trabajo financiado por la Junta de Andalucía (Proy. Excelencia P05-AGR-0408).

EFFECT OF DIFFERENT ASHES FROM BIOMASS ALTERNATIVE ENERGY PRODUCTION ON IN VITRO RUMINAL FERMENTATION OF DIETS BASED ON ALFALFA HAY

ABSTRACT: Batch cultures of mixed rumen micro-organisms were used to study the ruminal fermentation promoted by diets based on alfalfa hay (AH) and AH and concentrate (AHC) without or with ashes from renewable energy produced with residual biomass (wood, olive oil extraction and greenhouses residues). Differences in mineral composition between ashes were observed. Kinetics of gas production were valuated based on the model $y = A [1 - e^{-ct}]$. There was no effect either of ash type and its addition on pH, ammonia concentration, gas production, methane concentration, total gas production (A), rate of gas production (c) and production of total and individual volatile fatty acids (VFA) after 24 h of incubation. Diet had a significant effect on pH, rate of gas production, production of acetic acid and gas production after 24 h of incubation (P = 0.036, 0.044 and 0.039; 0.021, respectively). Results from this experiment indicate that ashes from different residual biomass can be included in diets based on alfalfa hay without compromising ruminal fermentation.

Keywords: ash, renewable energy, residual biomass, ruminal fermentation, methane.