

CARACTERIZACIÓN QUÍMICO-FÍSICA Y CINÉTICA DE FERMENTACIÓN IN VITRO DE HARINA DE FOLLAJE DE *Stizolobium* PARA CERDOS

Madeleidy Martínez, L. Sarmiento, Zoraya Rodríguez, Lourdes Savón, L.E. Dihigo, R. Rodríguez, Yasmila Hernández, A. Oramas, Mabelys Domínguez y Lucía Sarduy

Instituto de Ciencia Animal. Apartado 24, San José de Las Lajas. La Habana, Cuba
email: mademar@ica.co.cu

RESUMEN

Se evaluó el uso de la harina de follaje de dos variedades de mucuna *Stizolobium niveum* y *Stizolobium deeringianum* en la alimentación de los cerdos mediante el estudio de la composición química y las propiedades físicas de la fracción fibrosa de ambas variedades. Se determinó además, la cinética de fermentación potencial a través de la técnica in vitro de producción de gas. Cinco muestras representativas por alimento se sometieron a una digestión prececal con pepsina/pancreatina y posteriormente, se utilizó la técnica de producción de gas mediante el uso de inóculo ruminal. Se estudiaron los parámetros de la cinética de fermentación, producción y velocidad de producción de gas ajustados al modelo de Gompertz.

La proteína verdadera constituyó el 94% de la proteína bruta (6.25) en ambas variedades estudiadas. El análisis de las propiedades físicas señaló diferencias ($P < 0.05$) significativas entre variedades. Aumentó el volumen fibroso y la capacidad de retención de agua en *Stizolobium niveum*, lo que pudiera favorecer la hidrólisis por las enzimas celulasas en el tracto digestivo de los cerdos.

A pesar de las diferencias encontradas en su composición, a partir de las 12 horas de incubación no varió el volumen de gas producido, lo que demuestra las mismas potencialidades en ambas variedades para ser digeridas en el intestino de los cerdos.

Palabras clave: cerdos, follaje, *Stizolobium*, composición química, digestibilidad in vitro, producción de gas

Título corto: *Stizolobium* para la alimentación de cerdos

PHYSICO-CHEMICAL CHARACTERIZATION AND KINETICS OF IN VITRO FERMENTATION OF *Stizolobium* FOLIAGE MEAL FOR PIGS

SUMMARY

Two varieties of mucuna foliage, *Stizolobium niveum* and *Stizolobium deeringianum*, were evaluated for feeding pigs by studying the chemical composition and chemical and physical properties of the fibrous fraction in both cultivars. Besides, the kinetics of fermentation was determined by the in vitro gas production technique. Five representative samples per feedstuff were subjected to a prececal digestion using pepsin/pancreatin and thereafter the gas production technique was employed with rumen content as inoculum. The parameters of the kinetics of fermentation, gas production and rate of gas production were studied according to the Gompertz model.

True protein accounted for 94% of crude protein (Nx6.25) in both evaluated varieties. The analysis of physical properties revealed significant ($P < 0.05$) differences between the two varieties. The fibrous volume and water holding capacity increased in *Stizolobium niveum*, which in turn could be favourable for hydrolysis by cellulase enzymes in the digestive tract of pigs.

In spite of the encountered differences in composition, after 12 hours of incubation there were no variations in the volume of produced gas, which showed the same potential in both varieties for digestion in the intestines of pigs

Key words: pigs, foliage, *Stizolobium*, chemical composition, in vitro digestibility, gas production

Short title: *Stizolobium* for feeding pigs

INTRODUCCIÓN

El follaje de *Stizolobium* sp (mucuna) sobresale por su contenido en proteína bruta, 18.79% (Martínez et al 2007) y minerales (Díaz et al 2002), lo que lo hace atractivo para su inclusión en las dietas de cerdos. Sin embargo, como alimento no convencional, presenta el inconveniente de tener un alto tenor en fibra (FDN, 46.85%) y presentar factores

antinutricionales (FANs) según Scull (2004), los cuales disminuyen la digestibilidad aparente de los compuestos nitrogenados (Savón 2005).

Este estudio tuvo como objetivo determinar la composición química y las propiedades físico-químicas de dos variedades

de una misma leguminosa tropical, en forma de harina de follaje, así como la cinética de fermentación potencial en el intestino de dichas harinas para la alimentación de cerdos.

MATERIALES Y MÉTODOS

Loa follajes se recolectaron al inicio de la floración. Para la elaboración de las harinas de las dos variedades de leguminosa se utilizó la planta entera, cortada a 5 cm sobre el nivel del suelo. Se tomó aproximadamente un kg de la planta (hojas y tallos) al azar, en cinco lugares diferentes del campo de experimentación.

Las muestras de follaje se secaron sobre un plato, al sol durante 2-3 días hasta la reducción de la humedad entre un 20-25%. Esto proceder evitó cualquier proceso fermentativo. Las muestras se redujeron a un tamaño de partícula de 1mm en un molino de martillos y posteriormente se pasaron por un tamiz para asegurar el menor tamaño posible. Para determinar las características químicas y físicas de la fibra dietética, se utilizaron seis repeticiones siguiendo un diseño de clasificación simple.

La determinación de la fibra bruta y extracto etéreo se realizó a partir de la metodología descrita por la AOAC (1995). La MS, proteína bruta (Nx6.25) y proteína verdadera (PV) se determinaron de acuerdo con Meir (1986). Se utilizó el método de fraccionamiento de Van Soest (1982) para determinar la fibra detergente neutro (FDN), fibra detergente ácido (FDA), lignina, celulosa y hemicelulosa.

El volumen de empaqueo y la solubilidad se determinaron a través del método de Seoane et al (1981). La capacidad de retención de agua se determinó según Marrero et al (1996).

Para determinar la cinética de fermentación in vitro se utilizó la técnica descrita por Theodorou et al (1994) y modificada por Oramas et al (2002). Se tomaron 2 g de muestra de cada harina y se incubaron con pepsina/pancreatina según Vervaeke et al (1989). Se preparó un medio de incubación a 39°C, con burbujeo constante de CO₂ compuesto por una mezcla de soluciones tampón, microminerales, macrominerales, resarzurina y una solución reductora cuya composición y proporciones se establecieron de acuerdo con Oramas et al (2002).

La solución reductora se preparó al momento, se añadió al medio y se esperó a que el color de la solución se tornara de rosáceo a incoloro para entonces añadir el inóculo ruminal en una proporción 0.10 de la mezcla total (10%). Como inóculo se empleó el contenido del rumen de dos animales adultos mestizos Holstein x Cebú, canulados y con una alimentación de 2 kg de forraje de caña/día.

Se recolectó el líquido ruminal de cada animal antes de suministrarle el alimento de la mañana, se filtró por varias capas de gasas, se homogeneizó y se mantuvo entre 30-40°C en condiciones de anaerobiosis. A cada botella, con la muestra pesada anteriormente en su interior, se le añadieron 80 mL de la solución final en condiciones de anaerobiosis e inmediatamente se selló y se colocó en un baño de temperatura controlada de 39°C y se tomó ese momento como la hora cero. Se incluyeron botellas con la misma solución de incubación pero sin muestra, que se utilizaron como blancos

para corregir el efecto del inóculo en los volúmenes de gas producido.

Se emplearon cinco réplicas por cada tratamiento. Para estimar los parámetros de la cinética de la fermentación, se ajustó la producción de gas acumulada de cada botella al modelo no lineal de Gompertz:

$$y = a + b(1 - e^{-cx})$$

donde,

y es la producción de gas acumulada (mL/g MS incubada)
a es el potencial de fermentación del tratamiento en las condiciones de incubación (asíntota de la curva, mL/g MS incubada)
b es la fase de latencia o retardo de la fermentación (horas)
c es el ritmo fraccional de fermentación (1/horas)
x es el tiempo de incubación (horas)

Los parámetros se midieron a las 2, 6, 8, 12, 24, 48, 54 y 72 horas. Los datos se analizaron en el sistema SPSS para Windows (SPSS 2009), según un modelo de clasificación simple. En los casos necesarios se utilizó para la comparación entre medias la dócima de Duncan (Steel y Torrie 1980).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La composición bromatológica de las dos variedades de mucuna estudiadas se muestra en la tabla 1. La proteína verdadera constituyó el 94% de la proteína bruta en ambas. Los indicadores estudiados fueron superiores para Stizolobium deeringianum excepto para el extracto etéreo. De forma general este último indicador fue alto en comparación con otras leguminosas temporales como canavalia y dólico (Savón et al 2004).

Tabla 1. Composición bromatológica de las harinas de follaje de mucuna

Análisis, %MS	Follaje de Stizolobium		EE ±
	niveum	deeringianum	
n	5	5	-
MS	86.06	89.92	0.30*
Proteína			
Bruta, Nx6.25	21.72	27.49	0.42*
Verdadera	20.52	25.78	0.18*
Extracto etéreo	3.37	2.39	0.28*

* P<0.05

En cuanto a la determinación de los componentes de la pared celular de la fibra (tabla 2), éstos coinciden con los informados por Díaz (2000) para harinas de follajes de la planta íntegra en las cosechas iniciadas en septiembre.

El fraccionamiento fibroso mostró valores diferentes y superiores para la variedad Stizolobium niveum, no así en el caso de la hemicelulosa que en Stizolobium deeringianum prácticamente duplicó la cifra. Este componente fibroso es más digestible para los monogástricos, sobre todo en las leguminosas (Giger y Pochet 1987).

Tabla 2. Fraccionamiento de la fibra de las harinas de follaje de mucuna

Fracción fibrosa, %MS	Follaje de Stizolobium		EE ±
	niveum	deeringianum	
n	5	5	-
FDN	66.19	59.86	0.33*
FDA	54.21	35.32	0.42*
Lignina	17.51	9.52	0.37*
Celulosa	34.99	25.61	0.54*
Hemicelulosa	11.98	24.53	0.42*

* P<0.05

El análisis de las propiedades físicas reveló diferencias significativas (P<0.05) entre las variedades en estudio (tabla 3). El volumen fibroso y la capacidad de retención de agua aumentó en Stizolobium niveum, lo que pudiera favorecer la hidrólisis de las enzimas celulasas en el tracto digestivo de los cerdos.

Tabla 3. Propiedades físicas de la fibra de las harinas de follaje de mucuna

	Follaje de Stizolobium		EE ±
	niveum	deeringianum	
n	5	5	-
Solubilidad, %	20.00	21.47	0.32*
Volumen, mL/g	5.42	4.93	0.09*
CRA, g H ₂ O/g	12.01	8.47	0.24*

* P<0.05

Estos resultados coinciden con los de Savón et al (1999), que observaron un aumento del volumen de la fibra y de la capacidad de absorción de agua de la harina de follaje de Canavalia ensiformis con respecto al maíz. La harina de follaje de Stizolobium deeringianum mostró los menores valores de producción de gas entre las 6 y 8 horas (tabla 4). Sin embargo, a partir de las 24 horas, comenzó a aumentar y se igualó a Stizolobium niveum.

Tabla 4. Producción acumulada de gas (mL/g de MS) de las harinas de follaje de mucuna (n = 5)

Horas	Follaje de Stizolobium		EE ±
	niveum	deeringianum	
2	0.13	0.00	0.09
6	3.09	0.93	0.33*
8	5.81	2.69	0.75*
12	10.44	8.16	1.68
24	25.32	24.55	3.52
48	51.66	54.38	4.36
54	61.45	68.85	4.62
72	73.01	84.29	4.71

* P<0.05

Al parecer, los resultados de la caracterización químico-física de ambas variedades pudieran explicar este comportamiento, ya que en Stizolobium deeringianum se observó una menor concentración de lignina y mayor de hemicelulosa, y en Stizolobium niveum se encontró un aumento del volumen de la fibra y de la capacidad de absorción de agua, lo que las hace igualmente fermentables por los microorganismos en el

proceso digestivo de los cerdos.

Pedraza (2000) planteó que los patrones de fermentación microbiana de los alimentos están muy relacionados con la composición de su follaje y por otra parte, An et al (2004), indicaron que la velocidad de fermentación se relaciona con la solubilidad de la fibra, la presencia de pectinas y la estructura así como con las propiedades físico-químicas del sustrato, fundamentalmente, su capacidad de absorción de agua.

En ambas harinas de follaje a las 2 y 4 horas, la producción de gas in vitro fue nula. Esto se atribuye habitualmente a la necesaria fase de identificación, adaptación y reconocimiento de la maquinaria enzimática de los microorganismos para crecer y utilizar al nuevo sustrato disponible en la condición ambiental que se le impone (Theodorou et al 1994).

En la tabla 5 se presenta el potencial y la velocidad de producción de gas in vitro en las fuentes estudiadas. La harina de follaje de Stizolobium deeringianum presentó el mayor potencial de producción de gas y la mayor fase de receso o retardo.

Tabla 5. Parámetros cinéticos de la fermentación in vitro del follaje de mucuna

	Follaje de Stizolobium	
	niveum	deeringianum
n	5	5
a	77.25	95.99
	± 11.42	± 4.67
b	3.66	4.35
	± 0.62	± 0.25
c	0.04	0.04
	± 0.01	± 0.003
R ² , %	89.05	99.04

A pesar de las diferencias halladas en la composición química de ambas variedades de stizolobium (mucuna) estudiadas a partir de las 12 horas de incubación no varió el volumen de gas producido, lo que demuestra que ambas variedades tienen las mismas potencialidades de ser digeridas en el intestino de los cerdos.

REFERENCIAS

- An, L., Thu Hong, T.T. y Lindberg, J.E. 2004. Ileal and total tract digestibility in growing pigs fed cassava root meal diets with inclusion of fresh, dry and ensiled sweet potato (*Ipomoea batatas* L.) leaves. *Animal Feed Science and Technology*, 114: 127-139
- AOAC. 1995. Official Methods of Analysis. Association of Official Agricultural Chemists (16th edition). Washington, District of Columbia, pp 1 465
- Díaz, M.F. 2000. Producción y caracterización de forrajes y granos de leguminosas temporales para la alimentación animal. Tesis DrSci Agric. Instituto de Ciencia Animal. San José de las Lajas, pp 91
- Díaz, M.F., González, A., Padilla, C. y Curbelo, F. 2002. Caracterización bromatológica de granos y forrajes de las leguminosas temporales *Canavalia ensiformis*, Lablab

purpureus y Stizolobium niveum sembradas a finales de la estación lluviosa. Revista Cubana de Ciencia Agrícola, 36: 409-416

Giger, S. y Pochet, S. 1987. Méthods d'estimation des constituants pariétaux dans les aliments destinés aux ruminants. Bulletin Technique de l'INRA, 70: 49-54

Marrero, A.I., Orta, M., Martínez, L. y Gutiérrez, O. 1996. Metodología para determinar la capacidad de intercambio catiónico de la fibra dietética. In: 11no Forum de Ciencia y Técnica. Instituto Superior de Ciencias Agropecuarias de la Habana. San José de las Lajas, pp

Martínez, M., Sarmiento, L., Savón, L., Santos, R. y Ku, J. 2007. Digestibilidad aparente de la proteína y la energía en pollos de ceba que consumen harina de follaje de mucuna (Stizolobium deeringianum) en la ración. Revista Cubana de Ciencia Agrícola, 47: 61-70

Meir, H. 1986. Laboraptaktibure, Tierernahrung und Futtermittlerkunde fur Tiererproduzenten. Verlag. Berlin, pp

Oramas, A., Rodríguez, R. y Chongo, B. 2002. Resultados preliminares del uso de una técnica in vitro de producción de gas en el estudio de la cinética de fermentación de alimentos fibrosos y concentrados. In: IX Encuentro de Técnicos Medios. San José de las Lajas, versión electrónica disponible en disco compacto

Pedraza, R.M. 2000. Valoración nutritiva del follaje de Gliricidia sepium (Jacq.) Kunth ex Walp. y su efecto en el ambiente ruminal. Tesis DrSci Vet. Instituto de Ciencia Animal. San José de las Lajas, pp 102

Savón, L. 2005 Alimentación no convencional de especies monogástricas: utilización de alimentos altos en fibra. In: VIII Encuentro de Nutrición y Producción de Animales Monogástricos. Guanare, p 30-50

Savón, L., Gutiérrez, O., González, T. y Orta, M. 1999. Manual de Caracterización Físico-química de Alimentos. Editorial del

Instituto de Ciencia Animal (EDICA). San José de las Lajas, pp 33

Savón, L., Scull, I., Orta, M. y Torres, V. 2004. Caracterización físico-química de la fracción fibrosa de cinco harinas de follajes tropicales para especies monogástricas. Revista Cubana de Ciencia Agrícola, 38:291-296

Scull, I. 2004. Metodología para la determinación de taninos en forrajes de plantas tropicales con potencialidades de uso en la alimentación animal. Tesis MSci. Universidad de La Habana, La Habana, pp 79

Seoane, J., Coté, M., Servais, P. y Laforest, J. 1981. Prediction of the nutritive value of alfalfa (Saranoc), bermuda grass (Saratoga) and timothy (Champ, Climax, Bourty) feed as hay to growing sheep. Canadian Journal of Animal Science, 61:403-409

SPSS. 2009. SPSS Statistics. Version 17.0 Statistical Package for Social Sciences (SPSS). Chicago (Illinois), versión electrónica disponible in: <http://www.spss.com>

Steel, R.G.D. y Torrie, J.H. 1980. Principles and Procedures of Statistics. A Biometrical Approach. McGraw-Hill Book Company In Company. Toronto, pp 481

Theodorou, M.K., Williams, B.A., Dhanoa, M.S., McAllan, A.D.B. y France, J. 1994. A simple gas production method using a pressure transducer to determine the fermentation kinetics of ruminant feeds. Animal Feed Science and Technology, 48:185-197

Van Soest, P.J. 1982. Analytical system for evaluation of feeds. In: Nutritional Ecology of the Ruminant (P.J. Van Soest, editor). Oliver & Boyd Books Incompany. New York, p

Vervaeke, I.J., Dierick, N.A., Demeyer, D.I. y Decuypere, J. 1989. Approach to the energetic importance of fibre digestion in pigs. II. An experimental approach to hindgut digestion. Animal Feed Science and Technology, 23:189-194