

Evaluación del efecto de enzimas exógenas (Celulasas) sobre la composición química y digestibilidad *in vitro* de la cáscara de maní, para el uso en rumiantes en la Provincia de Manabí



Dr. Edis Geovanny Macías Rodríguez Mg. Sc.

Docente de la Universidad Técnica de Manabí
Estudiante doctoral en el Programa de "Ciencia Animal"
de la Universidad Agraria La Molina. Lima- Perú.
Becario del Programa "Academia 2010" de la SENESCYT
emacias@utm.edu.ec

RESUMEN

*Bajo el apoyo de la Senescyt, con sus programas de fortalecimiento de la investigación, de la Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO) y la Agencia Internacional de Energía Atómica (IAEA) se desarrolló este ensayo en la Universidad Agraria La Molina de la Ciudad de Lima- Perú, donde se evaluó el efecto de enzimas exógenas (Celulasas) sobre la composición química y digestibilidad *in vitro* de la cáscara de maní, para el uso en rumiantes en la Provincia de Manabí. Conociendo la problemática de la ganadería Manabita, en los meses de octubre hasta diciembre, la sequía, reflejada en la falta de pastos, una opción valedera en la nutrición animal es usar residuos de cosecha. La composición química como proteína cruda 6,9%, cenizas 4,3%, FDN 94,9%, FDA 74,4% y una estimación de energía neta de lactancia de 0,34 Mca/KgMS. La digestibilidad *in vitro* de la Materia seca, usando enzimas en 3 niveles C-2000, C-4000 y C-8000 UI/Kg MS (UI= Unidades Internacionales son micromoles/ml/min) en comparación con un testigo durante 24 y 48 horas, existió diferencia altamente significativa, siendo la mejor C-2000 con 20,58% DIVMSM.*

Palabras claves: Enzimas fibrolíticas, micromoles, *in vitro*, digestibilidad, materia seca, celulasas, incubación.

ABSTRACT

Under the support of the Senescyt, with his programs of strengthening of the investigation, of the United Nations Organization for the Agriculture and the Supply (FAO) and the International Agency of Atomic power (IAEA) this test developed in the Agrarian University The Molina of the City of Lima - Peru, where there was evaluated the effect of enzymes exogenous (Celulasas) on the chemical composition and in vitro digestibility of the rind of peanut, for the use in ruminants in Manabí's Province. Knowing the problematics of the ranching Manabita, in October until December, the drought reflected in the lack of pastures, a valid option in the animal nutrition is to use residues of crop. The chemical composition like raw protein 6,9 %, ashes 4,3 %, FDN 94,9 %, FDA 74,4 % and an estimation of clear energy of lactation of 0,34 Mca/KgMS. The in vitro digestibility of the Matter dries, using enzymes in 3 levels C-2000, C-4000 and C-8000 UI/Kg MS (UI = International Units are micromoles/ml/min) in comparison with a witness for 24 and 48 hours, highly significant difference existed, being the best C-2000 with 20,58 % DIVMSM.

Key words: Enzymes fibrolíticas, microlike, *in vitro*, digestibility, matter dries, celulasas, incubation.

Recibido: 17 de mayo, 2012

Aceptado: 8 de junio, 2012



INTRODUCCIÓN

El uso de enzimas en alimentación es una tecnología emergente que mejora la digestibilidad de los forrajes para rumiantes. Se espera que las respuestas a la inclusión de enzimas fibrolíticas sean mayores en situaciones donde la energía digestible es el primer nutriente limitante de la dieta. Aunque las respuestas en la producción de leche, aumento de peso y la eficiencia de conversión del alimento se han observado como satisfactorias, todavía son inconsistentes, particularmente cuando se evalúa en diferentes alimentos (Beauchemin y Holtshausen, 2010). Por otro lado, el crecimiento demográfico a nivel mundial, se estima

que produce un mayor impacto negativo sobre el ambiente, producto de las actividades humanas de todos los sectores: industrial, energético, agropecuario y de la producción de residuos. La población mundial actual es de aproximadamente 6.000 millones de personas y las estimaciones más recientes de la Naciones Unidas indican que para el año 2025 será de 8.500 millones. (Melendi, 2011). En el sector pecuario, la actividad de la ganadería es responsable de aportar al menos con un 15% de metano, equivalente a 80 millones de toneladas al año, por consecuencia de la fermentación entérica, causante del efecto invernadero. (www.cambioclimaticoglobal.com). El uso de enzimas y tecnologías nucleares para mejorar la eficiencia

de alimentos fibrosos en rumiantes, genera expectativa en la productividad por animal y reduciendo el impacto ambiental que se genera al convertir el alimento en litros de leche o en kilos de carne.

JUSTIFICACIÓN

La utilización de residuos de cosechas en la alimentación animal, es una alternativa en varios países con actividad agropecuaria. Este es el caso de la broza de espárrago, panca de maíz, cáscara de maní, entre otros, que son fuentes alimenticias no convencionales de alta disponibilidad para el ganado (FAO, 2010). En Ecuador, se estimó unas 7.948 Tm de cáscara de maní para el 2002 (www.agroecuador.com). En Manabí existen más de 1,2 millones de reses, de las cuales cada año son afectadas alrededor de 500 mil por causa de la sequía y falta de pastos disponibles en la época de octubre - diciembre que azota en esta provincia en particular en la zona central y sur. Pero con escaso riego que dispone en ciertas zonas donde se siembra maní (*Arachis hipogea*) entre ellos San Placido, Santa Ana, Calderón, Tosagua entre otros, se utiliza cáscara de maní como residuos de cosechas altamente fibrosos para evitar la mortalidad por falta de alimento. Según las autoridades, las pérdidas por sequías cada año alcanzan hasta 20 millones de dólares, perjudicando a 60 mil familias y a más de 800 mil hectáreas de pastizales que se tornan terrenos secos e improductivos (Diario El Universo, 2009). El uso de enzimas a nivel mundial para el 2015 se elevará a un ritmo considerable alcanzando un incremento anual de 6,3% principalmente por uso en alimentación animal así como en alimentos y bebidas enzimáticas (www.allaboutfeed.net). Se han realizado varios trabajos con enzimas exógenas (*Xilananas* y *Celulasas*) que mejoran la degradación del alimento en el rumen,

debido a un sinergismo con las enzimas de los microorganismos ruminantes (Morgavi et al., 2000). Por lo tanto, se justifica el uso de enzimas fibrolíticas para mejorar la digestibilidad de la materia seca de vegetales altamente fibrosos y a su vez cuantificar la producción de gases, entre ellos el metano responsable del efecto invernadero. De acuerdo con Giménez (2012), entre todos los aditivos, las enzimas han tenido mayor progreso, junto al masivo empleo de aminoácidos industriales a partir de fermentaciones controladas de manera industrial. Para Beauchemin y Holtshausen (2010), las ventajas de las enzimas son varias entre ellas mejorar la digestibilidad de los nutrientes, eliminación de los factores antinutricionales (FAN) así como también contribuir con el medio ambiente, reduciendo el volumen de producción de estiércol y reduciendo la excreción de fósforo y nitrógeno. Aunque las respuestas en producción de leche, aumento de peso y la eficiencia de conversión del alimento han sido satisfactorias, aun son inconsistentes, particularmente cuando se evalúa en diferentes alimentos (Beauchemin y Holtshausen, 2010).

OBJETIVO GENERAL

El objetivo general es evaluar el efecto de celulasa sobre la composición química y digestibilidad *in vitro* de cáscara de maní (*Arachis hipogea*) para el uso en ganadería bovina.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Determinar la variabilidad en la composición química de la cáscara de maní en diferentes zonas.
- Determinar el impacto enzimático exógeno (*celulasas*) sobre la digestibilidad *in vitro* de la cáscara de maní.

METODOLOGÍA

Ubicación

El presente estudio se llevó a cabo en el Laboratorio de evaluación nutricional de alimentos (LENA), perteneciente a la Universidad Agraria Nacional La Molina ubicado en la ciudad de Lima – Perú. Como parte de un proyecto financiado por la FAO y la Agencia Internacional de energía atómica, cuyo líder es el Dr. Carlos Gómez Bravo, Docente principal de la Universidad Agraria La Molina.



Caracterización química de la cáscara de Maní (*Arachis hipogea*)

Fue recolectada en las plantas descascaradoras de la provincia de Manabí, principalmente en tres zonas como Tosagua, Calderón y San Plácido. Los criterios de variación de las muestras a más de los diferentes manejos agronómicos de la producción de maní, como las diferentes zonas de cultivo. Los análisis químicos que se le realizaron fueron:

- Humedad (%)
- Cenizas (%)
- Proteína cruda (%)
- FDN (%)
- FDA (%)

Enzima evaluada

Fue la *Celulasa* comercial, de los laboratorios Dyadic International (EE.UU.).

En cada enzima se realizó la evaluación de la actividad enzimática la cual se procedió de la siguiente:

Procedimiento para medir actividad enzimática

Materiales y reactivos de Laboratorio.

- Incubadora o baño de agua capaz de mantener la temperatura deseada de incubación (39 ° C).
- Tubos de ensayos de 15 ml.
- Agitadores.
- Vasos de precipitación
- Balanza analítica.
- Reloj cronómetro.
- Reactivo DNS
- Enzimas fibrolíticas (celulasas)
- Azúcares reductores
- Sustratos (Carboximetil celulosa)
- Buffer

La digestibilidad *in vitro*

El procedimiento que se va utilizar es Tilley y Terry modificado por Van Soest (1970) de rumen *in vitro* permite obtener el valor de la digestibilidad verdadera. El valor de digestibilidad verdadera se puede predecir basándose en los constituyentes de paredes celulares no digeridas, este método es más rápido y requiere poco equipo adicional en un laboratorio con aparatos para determinaciones usando detergentes.

Los primeros cinco pasos:

- Pesaje de la muestra o sustrato que va de 0,5 gramos y colocado en un elermeyer de 125 ml.
- Preparación del medio, se agrega tripticasa, micro y macro elementos, buffer y resazurina, todo esto en 400 ml, se mezcla y se añade 40 ml por elermeyer.
- Equilibrio, poner los tampones y colocar los tubos en el baño de María, hacer ingresar CO₂ con una presión de 30 – 40 cm de agua y chequear las válvulas de bunsen. Se añade también una solución reductora, donde se añade 2 ml a través del tubo de entrada con una pipeta automática,

agitarse los frascos y observar si cambia de color las soluciones.

- Preparación del inóculo o licor ruminal colectado de un animal fistulado. En un vaso de precipitación colectase, previo a un licuado y filtrado del inóculo. Inocular 10 ml al vaso elermeyer para la fermentación.
- Fermentación, cerrar los tubos y dejarlos incubar por 48 horas, agitando de tal manera que no produzca salpicadura.

En el caso de determinar la digestibilidad verdadera el siguiente procedimiento es sacar los elermeyer del baño de María, luego verter el contenido para realizar el proceso de la determinación de FDN para su cálculo correspondiente. (Manual de análisis de fibra de forrajes 1971).

Niveles de enzimas que se utilizó.

Se aplicó directamente sobre la cáscara de maní tres niveles de enzimas comparándolo con el testigo:

- 1.- Nivel 0 ó (testigo).
- 2.- con 2000 UI de celulasa por

Kg de Materia Seca.

- 3.- con 4000 UI de celulasa por Kg de materia seca.
- 4.- con 8000 UI de celulasa por Kg de materia seca

UI= Unidades Internacionales (micromoles/minutos/ml)

Con dos tiempos de Incubación:

- 1.- A las 24 horas
- 2.- A las 48 horas

Donde:

Y = observaciones para las variables dependientes,

μ = media de todas las observaciones,

Ni = efecto del i-ésimo niveles, (i = 1, 2, 3, 4),

Sj = efecto del j-ésima tiempo de incubación, (j = 1, 2,)

(N*S) = Interacción de los factores Niveles x Incubación (4x2 =8) y

εijk = error experimental.

DISEÑO EXPERIMENTAL

Resultados del análisis de digestibilidad *in vitro* de la Materia Seca

Se utilizó un diseño completamente al azar con arreglo factorial 4x2 (niveles e incubación) y tres repeticiones por tratamiento. Los análisis se realizaron con el PROC ANOVA y prueba de Tukey ($p<0,05$), del SAS.

Análisis estadístico

El modelo aditivo lineal en la forma expandida para la digestibilidad *in vitro* de la Materia Seca:

$$Y_{ijkl} = \mu + N_i + S_j + (N*S)_{ik} + \epsilon_{ijk}$$

RESULTADOS

De acuerdo con los resultados sobre composición química de la cáscara de maní (*Arachis hipogea*) se puede observar, que se utiliza con frecuencia en la costa ecuatoriana en épocas de baja disponibilidad de forraje, presenta una baja calidad nutricional respecto (6,9% proteína cruda, 94,9% FDN, 74,5% FDA y 0,33 EN_L Mcal/Kg MS).

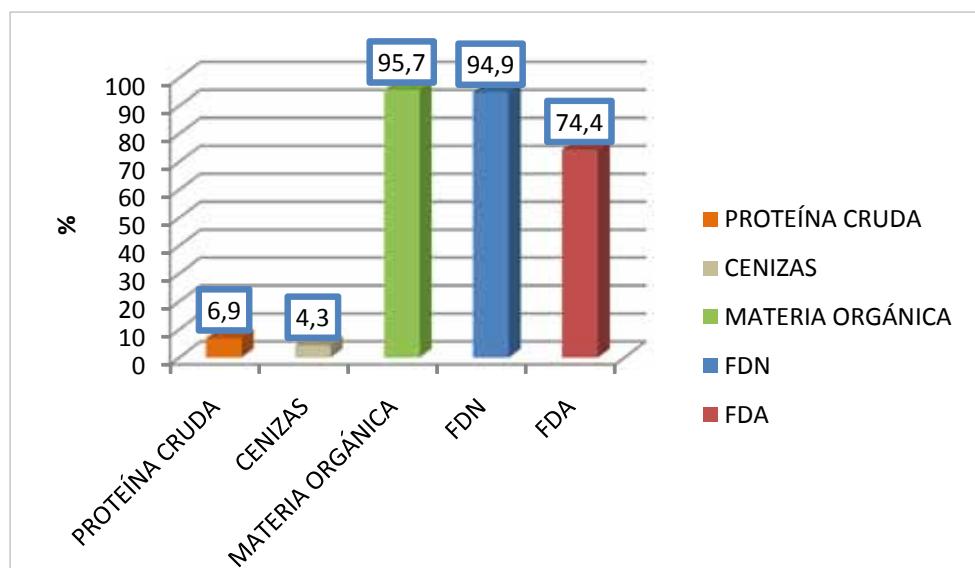
(Ver tabla 1)

Tabla 1.- RESULTADOS DE LA COMPOSICIÓN QUÍMICA DE LA CÁSCARA DE MANÍ
(expresados en base seca).

	Proteína cruda (%)	Cenizas (%)	MO (%)	FDN (%)	FDA (%)	EN de lactación Mcal/Kg MS
Cáscara de maní	6,9	4,3	95,7	94,9	74,4	0,34

Fuente: Laboratorio LENA 2011

MO= Materia Orgánica; FDA= Fibra detergente Ácida y FDN= Fibra Detergente Neutra



Se evaluó el efecto de la aplicación 3 niveles de una enzima fibrolítica (*Celulasas*) C-2000, C-4000 y C-8000 UI/Kg MS (UI= Unidades Internacionales son micromoles/ml/min) en comparación con un testigo durante 24 y 48 horas. Para su análisis estadístico se utilizó el diseño completamente al azar con arreglo factorial 4x2.

En la cáscara de maní existió diferencia significativa entre los niveles y entre el tiempo de incubación, lo cual presentó mejor digestibilidad con los niveles C-2000 UI/Kg MS (DIVMS 20,6%) comparándola con el testigo con DIVMS 17,9% (Pr:<,0001). En cuanto al tiempo de incubación el mejor fue a las 48 horas con 20,8 % de digestibilidad in vitro de la materia seca. (*Ver Tabla 2*).

Según Toala, (1981) en un estudio sobre el uso de la cáscara de maní (*Arachis hipogaea*) en engorde de bovinos en Manabí, los valores de la composición química fueron 6,25% de proteína cruda, 0,36% de calcio, 1,44% de fósforo y 44,77% de Fibra cruda. Este autor recomienda utilizar la cáscara de maní molida en preparaciones de raciones hasta un 30% y en épocas críticas donde falta materia seca hasta un 50%, ya que por su alto contenido de fibra puede ser transformada por los rumiantes en proteína.

CONCLUSIONES

Según la composición química de la cáscara de maní tiene un buen valor de proteína de 6,9% y una fibra total (FDN) de 94,9%, La mejor digestibilidad in vitro de la materia seca se da cuando se aplica enzimas exógenas con niveles de C-2000 UI/Kg MS. Con 20,58%. El mejor tiempo de incubación es de 48 horas con una digestibilidad in vitro de la materia seca en promedio de 20,84%.

RECOMENDACIONES

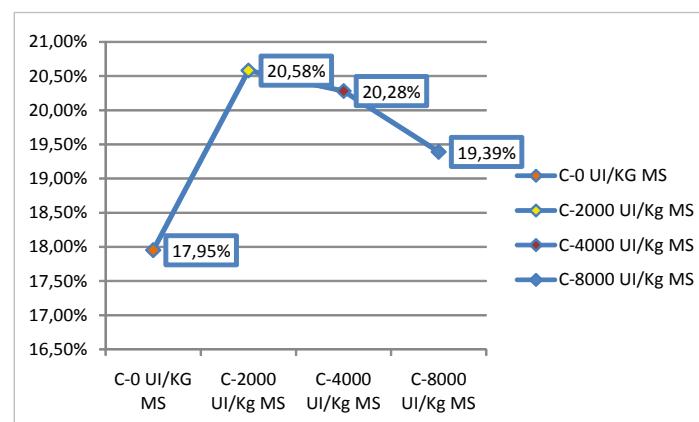
Se debe usar la aplicación de enzimas fibrolíticas para mejorar la digestibilidad de la fibra presente en la cáscara de maní de 2000 a 4000 UI/Kg MS.

Seguir realizando otras evaluaciones con digestibilidades in vivo o in situ para ver el comportamiento de la enzima.

Medir la producción de gas producto de la fermentación al aplicar enzimas sobre los residuos de cosecha.

Tabla 2.- RESULTADOS DE LA DIGESTIBILIDAD IN VITRO DE LA MATERIA SECA DE LA CÁSCARA DE MANÍ

Cáscara de Maní	
Nivel de Celulasas (C)	
C- 0 UI/Kg MS	17,950 c
C-2000 UI/Kg MS	20,578 a
C- 4000 UI/Kg MS	20,275 ab
C- 8000 UI/Kg MS	19,388 b
Tiempo de incubación (Ti)	
A las 24 horas	18,256 b
A las 48 horas	20,840 a
P-value	
Niveles (C)	<,0001 ***
Tiempo de incubación (Ti)	<,0001 ***



REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALL ABOUT FEED, 2012. World enzyme demand to reach \$ 7,6 billion by 2015, Available: www.allaboutfeed.net. Feb,07, 2012. N° 15.
- Beauchemin, K. A. and L. Holtshausen. 2010. Developments in Enzyme Usage in Ruminants. Enzymes in Farm Animal Nutrition. 2nd Edition. Edited by Bedford M. and Partridge G. USA. p. 206-225.
- Censo Agropecuario del Ecuador. 2002. Disponible en www.buenastareas.com/ensayos/censo-agropecuario.
- CENSO AGROPECUARIO, 2002. Análisis e interpretación del III Censo agropecuario ecuatoriano. Disponible en www.agroecuador.com. Revisado, Feb, 07 de 2012.
- El Universo. El ganado agoniza por la sequía en tierra manabita. Diario ecuatoriano. Martes, 24 de noviembre del 2009. Guayaquil- Ecuador.
- FAO (Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación) 2010. Bioenergía y seguridad alimentaria “BEFS” para el Perú. Compendio Técnico. Volumen II. Metodología. 180 p. Disponible en: www.fao.org/docrep/013/i1708s.pdf.
- Manual de Análisis de Fibra de Forrajes, 1971. Universidad Nacional Agraria La Molina. Programa de Forrajes. Traducción de “Forage fiber analyses” de Goering H y VanSoest. Misión agrícola de la Universidad de Carolina del Norte- USAID.
- Melendi, D. 2011. Efectividad de los productos del animal como alternativa para producir más leche o más ganancia de peso por alimento consumido. Disponible en: www.crcyt.edu.ar/enciclopedia/terminos. Revisado 16 de septiembre de 2011.
- Morgavi, D. P., Wuerfel, R., Nsereko, V. L. Beauchemin, K. A. and Rode, L. M. 2000. Effect of enzyme feed additives and method of application on in vitro feed digestibility. J. Dairy Sci. 83 (Suppl. 1): 291 (Abstr.).
- Toala, G. M. 1981. Uso de la cáscara de maní (*Arachis Hipogaea*) en engorde de bovinos. Tesis de Grado. Med. Vet. Universidad Técnica de Manabí. Portoviejo - Ecuador.
- www.calentamientoglobal.com/ Producción de metano responsable del efecto invernadero. Visitado el 25 de mayo de 2011.