



UNIVERSIDAD
POLITECNICA
DE VALENCIA

MÁSTER EN PRODUCCIÓN ANIMAL

Modificación de la calidad del nitrógeno en dietas para cerdos de engorde: efectos sobre los parámetros productivos y las emisiones de amoníaco del purín

Tesis de Máster

Valencia, septiembre 2013

Hugo García Miralles

Director:

Salvador Calvet Sanz

Co-directora:

Alba Cerisuelo García

AGRADECIMIENTOS:

A todas las personas que, de un modo u otro, han contribuido a que pudiera realizar este trabajo:

A mi Director de Tesis, Salvador Calvet Sanz, por su apoyo incondicional, durante la duración del proyecto.

A toda la gente del CITA, que tanto me han ayudado, especialmente a mi tutora Alba y a Pau, por su apoyo y consejos a la hora de realizar el trabajo de granja.

A mis compañeros y amigos del Máster de Producción Animal, que han compartido este trayecto conmigo.

A mi familia y amigos, por su apoyo en todo momento.

¡Gracias a todos!

RESUMEN

Se evaluaron los efectos de 3 dietas de igual valor nutricional en cerdos de cebo, modificando los ingredientes, y por tanto el aporte de nitrógeno ligado a fibra de la ración y la fuente proteica, sobre los parámetros productivos, y sobre las características de los purines en las emisiones amoníaco. Se formularon un total de 3 piensos que incluían distintas fuentes de proteína (Soja, DDGS y Girasol).

El ensayo se realizó en condiciones de digestibilidad controladas, teniendo en cuenta, el estado fisiológico de los animales, utilizando muestras extraídas únicamente de los experimentos controlados, con el fin de evaluar sus patrones de excreción de nutrientes, la composición del efluente y el potencial de producción de amoníaco. Se llevaron a cabo con 12 jaulas metabólicas ubicadas en una habitación a temperatura controlada de la unidad de porcino, en el Centro Experimental de Investigación y Tecnología Animal (CITA-IVIA) perteneciente al Instituto Valenciano de Investigaciones Agrarias (IVIA), ubicado en Segorbe (Castellón). Cada tratamiento ensayado, utilizó 8 animales por tratamiento, 24 animales en total (8*3 tratamientos), y se realizaron 2 tandas de 4 animales por tratamiento, de alrededor de 40-50 kg de peso.

Los animales se colocaron individualmente en jaulas metabólicas durante 5 días para la adaptación seguidos por un período de recogida de muestras de 8 días aproximadamente, de acuerdo a Jarret et al. (2010). Se realizó un ensayo de digestibilidad con las muestras que provenían de los 4 primeros días de muestreo, y un ensayo de emisiones con las muestras recogidas los últimos tres días de muestreo.

Los parámetros productivos de consumo de pienso y agua, peso, crecimiento y excreción de orina y heces, no mostraron diferencias significativas, en el ensayo de digestibilidad. En el ensayo de emisiones, los purines asociados a los piensos que incorporaron girasol y DDGS tuvieron mayores emisiones de NH_3 que el pienso a base de soja. Las diferencias encontradas en los valores de nitrógeno ligado a fibra entre los piensos y las variaciones del pH en la orina y heces excretados pueden explicar la variación encontrada en las emisiones de NH_3 .

ABSTRACT

The effects of 3 diets of equal nutritional value in finishing pigs modified the ingredients, and therefore the contribution of bound nitrogen ration fiber and protein source on performance, and the characteristics of slurry in ammonia emissions. He made a total of 3 different feed protein sources included (Soybean, and Sunflower DDGS).

The test was conducted in controlled conditions digestibility, taking into account the physiological state of animals using only samples from controlled experiments in order to evaluate their excretion patterns nutrient effluent composition and production potential ammonia. Were conducted with 12 metabolic cages placed in a room at controlled temperature of the pig unit in the Center for Experimental Animal Research and Technology (CITA- IVIA) of the Instituto Valenciano de Investigaciones (IVIA) located in Segorbe (Castellón). Each treatment tested, 8 animals per treatment used, 24 animals in total (8*3 treatments), and 2 batches were made of 4 animals per treatment of about 40-50 kg.

Animals were placed individually in metabolic cages for 5 days followed by an adaptation sampling period of approximately 8 days, according to Jarret et al. (2010). We performed a digestibility trial with samples coming from the first 4 days of sampling, and emissions test samples collected the last three days of sampling.

Performance parameters of feed and water consumption, weight, growth and excretion of urine and feces no significant differences in the digestibility trial. In emission testing, slurry feed associated with sunflower incorporated DDGS had higher NH_3 emissions that soy-based feed. The differences in values between fiber bound nitrogen feed and pH variations in the urine and feces excreted may explain the variation found in the emission of NH_3 .

ÍNDICE DE MATERIAS

1. INTRODUCCIÓN	1
1.1 Aprovechamiento de nitrógeno por los animales	1
1.2 Pérdidas de nitrógeno y su implicación ambiental	2
1.2.1. <i>Emisiones de amoníaco en purín</i>	3
1.2.2. <i>Valor fertilizante o energético del purín y su relación con las emisiones de gases</i>	4
1.3 Gestión nutricional en los cerdos de cebo	4
1.3.1 <i>Necesidades nutritivas en porcino</i>	5
1.3.2 <i>Gestión del agua</i>	6
1.3.3 <i>Fuentes proteicas utilizadas en piensos de porcino, y nuevas alternativas</i>	6
2. OBJETIVOS	9
3. MATERIALES Y MÉTODOS	11
3.1 Dietas.....	11
3.2 Ensayos de digestibilidad.....	12
3.2.1 <i>Ubicación</i>	12
3.2.2 <i>Animales</i>	13
3.2.3 <i>Periodo experimental</i>	14
3.2.3.1 <i>Ensayo de digestibilidad</i>	14
3.2.3.2 <i>Ensayo de emisiones</i>	15
3.3 Emisiones de NH ₃	16
3.3.1 <i>Montaje</i>	16
3.3.2 <i>Análisis de NH₃ de las muestras diarias</i>	17
3.4 Tratamiento estadístico.....	19
4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	21
4.1 Productivos.....	21
4.1.1 <i>Consumos crecimientos y peso (GMD)</i>	21
4.1.2 <i>Heces-Orina</i>	23
4.2 Emisiones	24
4.2.1 <i>pH y nitrógeno amoniacal del purín</i>	24
4.2.2 <i>Emisiones de NH₃</i>	26
5 CONCLUSIONES	29
6 AGRADECIMIENTOS	31
7 BIBLIOGRAFIA	32

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. <i>Ingredientes de los piensos experimentales (% materia seca)</i>	11
Tabla 2. <i>Composición nutricional de los piensos experimentales</i>	12
Tabla 3. <i>Consumos de agua en (L/día) y pienso (Kg/día) pesos y ganancia media diaria (GMD) de los animales durante el ensayo</i>	21
Tabla 4. <i>Pesos de orina y heces (Kg/día) durante el ensayo</i>	23
Tabla 5. <i>Medidas de NH₃ en mg/l y pH de heces, orina y purín durante el ensayo.</i>	24
Tabla 6. <i>Emisiones de NH₃ (mg/d) durante el ensayo.</i>	26

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Jaulas metabólicas donde se llevo a cabo el ensayo	13
Figura 2. Balanza de pesado de los cerdos	13
Figura 3. Corralinas de la sala de cebo donde se realizó la adaptación en corral	14
Figura 4. Labores de recogida durante el muestreo en jaulas	15
Figura 5. Labores de realización del purín	15
Figura 6. Baño con muestras de purín del ensayo de emisión de NH ₃ . Detalle de borboteadores y conducciones	16
Figura 7. Esquema de funcionamiento del ensayo de emisión de NH ₃ . Detalle de bomba, borboteadores, filtro y conducciones.	17
Figura 8. De izquierda a derecha: Botes de recogida, báscula y sonda	18
Figura 9. PH-metro con dos soluciones tampón de calibración	18

1. INTRODUCCIÓN

La ganadería contribuye actualmente a una parte importante de los gases de efecto invernadero (GEI), debido a la alta demanda de carne y la alta intensificación del sector. En porcino, la fase de cebo comprende el crecimiento del animal desde los 20 a los 110-130 kg aproximadamente y su duración está en torno a los 3-4 meses dependiendo de la edad estipulada para el sacrificio en cada caso. La alimentación en el cebo pretende maximizar la velocidad de crecimiento, conseguir un buen índice de conversión y obtener un producto final de calidad. Para ello, se investiga la composición de la dieta, la composición de las deyecciones, y esto se evalúa a través de modelos que incluyan las emisiones de gases y la valorización de purines para la aplicación en el campo como abono orgánico o producción de biogás (Jongbloed., 2007; Dierick et al., 1990; Dinucio et al., 2008).

Actualmente existe una creciente preocupación sobre el impacto de los altos niveles de los purines como fertilizante. En consecuencia, la normativa europea se ha modificado para limitar el uso de abono animal en ciertas áreas (Jongbloed y Lenis, 1998). Los principales problemas ambientales ante los que nos encontramos con el uso masivo de purines como fertilizante son los aumentos en la carga ambiental de compuestos nitrogenados, las emisiones de gases de efecto invernadero, el fósforo (P) y los metales pesados acumulados.

1.1 Aprovechamiento de nitrógeno por los animales

El nitrógeno (N) ingerido en los alimentos es esencial, tanto para la síntesis de nuestros propios aminoácidos, como para la creación de las bases nitrogenadas de los ácidos nucleicos. Podemos encontrar el N de diversas formas: la mayoría de las proteínas contienen alrededor de un 16% de nitrógeno (nitrógeno proteico). Existe también nitrógeno no proteico, que corresponde a compuestos que poseen nitrógeno en su molécula, en formas distintas a la propia de la proteína y su utilización queda limitada al ciego y colon principalmente (Morgan et al., 1988). También podemos encontrarlo en forma de aminas, amidas, purinas, alcaloides, sales de amonio, compuestos nítricos, y urea, esta última se absorbe en el intestino delgado (Van Soest et al., 1991).

De acuerdo con FEDNA (2010), la digestibilidad del N asociado a la proteína y su asimilación por el animal, varía en gran medida entre los principales ingredientes utilizados para la alimentación de cerdos: del 85% en alimentos concentrados (granos

de trigo, harina de soja), hasta 50-60% en los alimentos fibrosos (DDGS, cáscaras de soja, harina de alfalfa o de pulpa de remolacha azucarera). La mayor parte de esta variación se explica por diferencias en la proporción de proteína relacionada con los componentes de la pared celular. Sin embargo la adición de fuentes de fibra fermentable en la dieta también puede afectar al N digerido y el excretado por el animal. Es el caso, por ejemplo, de la inclusión de fibra fermentable como la suministrada por fuentes lignificadas bajas (remolacha azucarera, pulpas de cítricos, o cascarilla de soja).

En la absorción del nitrógeno durante la digestión del alimento se encuentran factores como el genotipo, la edad, peso de sacrificio y el sexo de los animales, que influyen en la absorción de N. Por tanto, los métodos de estimación de nitrógeno en la digestión del animal consideran estos efectos de digestibilidad. También influyen otros factores externos al animal como la densidad animal, la temperatura ambiental y principalmente la alimentación.

1.2 Pérdidas de nitrógeno y su implicación ambiental

En la producción ganadera, las pérdidas de nitrógeno se producen a través de la orina y las heces, donde se encuentra el nitrógeno de la dieta que no es retenido. Por tanto, es en el nitrógeno endógeno y el nitrógeno microbiano en la heces por una parte, y en el nitrógeno en forma de urea en la orina, donde se debe buscar las pérdidas de nitrógeno (Morgan et al., 1988). En promedio, en porcino se excreta más de la mitad del N ingerido a través de orina y heces (Cahn et al, 1998a, b; Van der Peet-Schwering et al, 1999).

Pero no solo el N ingerido a través del nivel de proteína influye en la emisión: la cantidad de N excretado en las heces depende también de la digestibilidad del N, que a su vez se ve afectada por el contenido total de fibra en la dieta y el contenido de fibra no digestible. Al modificar los ingredientes como fuentes de energía, fuentes de proteína, fuentes de vitaminas, minerales y aditivos no nutricionales podemos encontrar una combinación adecuada de todos ellos. Sin embargo, en el uso de determinados ingredientes frecuentemente debemos atenernos a factores como la zona de producción, el tipo de animal o el precio de las materias primas.

El cerdo de engorde tiene una capacidad de transformación del N deficiente, y elimina alrededor del 65% de la ingesta. Para mejorar este índice, la gestión nutricional permite variar la cantidad de N eliminado. En dietas con altos contenidos de proteína

suministrada en la ingesta, que suele ser lo normal, este exceso se elimina como urea, que pronto pasa a NH_3 y por tanto puede favorecer la contaminación. Por eso se recomienda reducir el nivel de proteína. Algunos estudios han demostrado que con una reducción de proteína y el suministro de los aminoácidos adecuados, se reduce ampliamente la eliminación de N. Pero sin embargo, no todo el nitrógeno excretado es de origen alimenticio, ya que también se puede eliminar parte del nitrógeno endógeno del animal (Dourmad et al., 1999; Canh et al, 1998).

1.2.1. Emisiones de amoníaco en purín

El amoníaco en los purines se origina principalmente de la descomposición de la urea en la orina (Jongbloed y Lenis, 1998, Canh et al., 1997). Este N excretado en la orina, se volatiliza por tanto con rapidez en comparación con el N orgánico de las heces. El N fecal se transforma lentamente en proteína microbiana (N orgánico), y su tasa de producción de N amoniacal (N-NH_3) es mucho más lenta que en el caso de la urea (Aarnink y Verstegen, 2007).

Se han investigado diversas manipulaciones dietéticas para reducir las emisiones de NH_3 , y se sabe que las excretas porcinas pueden alterarse a través de estrategias de alimentación. Una variación del contenido de N alimentario altera la proporción de N excretado en la orina y heces (Portejoie et al, 2004; Galassi et al, 2010). Cada aumento del 1% en la dieta de proteína bruta (PB) desencadena un aumento de 10-12% del NH_3 contenido en el estiércol (Canh et al, 1998 d). Por tanto, si reducimos el nivel proteico de las dietas, este se verá rápidamente reflejado en la disminución de las pérdidas de N en la orina, y por tanto en las emisiones de NH_3 .

Además de la proteína y la fibra, otros factores de la dieta tales como la cantidad y la fuente de grasas y aceites también pueden afectar a las emisiones, aunque estos efectos no han sido muy estudiados todavía. Factores como la inclusión de altos niveles de grasa o aceite en la dieta pueden limitar la disponibilidad de sustratos fermentables a la microflora intestinal (Patridge y Gill, 2001), esto a su vez también podría inhibir la microflora responsable de la emisión de NH_3 (Leek et al., 2004). Sin embargo otros estudios apuntan (Moset et al., 2010b) que los animales alimentados con niveles altos de grasa en sus dietas, poseen niveles más bajos de fermentación bacteriana, pero ligeramente más altos de NH_3 . También los aditivos en la alimentación o en las fosas de purines, tales como prebióticos (Williams et al., 2001), ácidos orgánicos (Kluge et al., 2006; Torrallardona et al., 2007; Kristensen et al., 2009; Halas et al., 2010) o extractos de plantas (Amon et al., 1995; Colina et al.,

2001), también podrían actuar a diferentes niveles con el fin de reducir la emisión de NH_3 .

1.2.2. Valor fertilizante o energético del purín y su relación con las emisiones de gases

El nitrógeno que el animal no puede aprovechar puede ser aprovechado en campo por su valor fertilizante. También se investiga actualmente sobre la utilización del estiércol animal para la producción de biogás a través de la digestión anaeróbica. Este proceso de valorización repercute en la fertilidad del suelo y proporciona una mayor calidad al estiércol, que cuando se utilizan únicamente fertilizantes comerciales y podría contribuir a reducir parcialmente la fertilización inorgánica (FAO, 2001; Fliessbach et al., 2007).

En la dieta del animal, hay evidencias que indican que la composición puede tener un efecto sobre la cantidad total de N, N-NH_4^+ , N orgánico y las fracciones de N orgánico soluble en porcino (Portejoie et al., 2004; Velthof et al., 2005; Kerr et al., 2006) y que esto podría afectar al valor del fertilizante. El NH_4^+ es más fácil y rápidamente utilizado por los cultivos, sin embargo la fracción orgánica de N se utiliza más lentamente pero durante un período de tiempo más largo, con menores emisiones de NH_3 asociadas. También existe un vínculo entre la composición de los purines y la emisión de otros gases (Moller et al., 2004; DiNuccio et al., 2008). Pero en definitiva, una mejor caracterización de la composición del purín con respecto a sus principales factores de variación, es esencial para mejorar la estimación de las emisiones de NH_3 y de gases de efecto invernadero de los purines.

1.3 Gestión nutricional en los cerdos de cebo

Los piensos constituyen la entrada principal del C y N en el sistema de producción animal. En el apartado anterior se ha visto que la composición de la dieta es capaz de modificar factores tales como la asimilación de los nutrientes y las tasas de fermentación en el intestino grueso, que a su vez afectan a la emisión de gases (Moller et al., 2004; DiNuccio et al., 2008; Moset et al., 2010b). Ahora debemos conocer las diferentes formas de entrada de nitrógeno en la dieta a través de las necesidades nutricionales del animal.

1.3.1 Necesidades nutritivas en porcino

Para conseguir un buen rendimiento de los cerdos en la etapa de cebo, al igual que en cualquier otra etapa, debemos proporcionarles una ración nutritivamente ajustada a sus necesidades. Las necesidades energéticas en animales en crecimiento son un factor crítico, ya que es importante asegurar un aporte correcto de energía. Sin embargo cuando la concentración energética del pienso es excesiva, esta limita la capacidad de ingestión de los cerdos y por tanto, su potencial de crecimiento. El aporte energético de la ración debe cubrir por un lado las necesidades de mantenimiento, y por otro, las necesidades de crecimiento en función del ritmo de crecimiento y de la ganancia de peso. Sin embargo no toda la energía que es consumida es retenida, normalmente solo el 50% de la energía presente en el alimento se retiene, el resto se pierde por la orina y en forma de metano y calor (Quiles y Hevia, 2008). Las necesidades energéticas en piensos para porcino se cubren generalmente con ingredientes como los cereales, melazas, grasa y aceites.

Las necesidades proteicas de los cerdos se corresponden con la exigencia de aminoácidos esenciales que son retenidos en los tejidos del cuerpo y el requerimiento de N indiferenciado para la síntesis de los aminoácidos no esenciales para crecimiento (deposición de tejido magro). También sirve para funciones de mantenimiento. Sin embargo, cuando el consumo de energía se incrementa por encima del nivel máximo de deposición proteica, la deposición de proteína y las necesidades de aminoácidos se mantienen constantes, y ese exceso de energía se deposita en el animal en forma de lípidos. Según diversas fuentes, las necesidades de N suministrado en forma de proteína bruta en cerdos de cebo se sitúan entre un 13 y un 18% (NRC, 1998; BSAS, 2003; FEDNA, 2006) según la etapa de cebo que se considere. Generalmente las necesidades de N proteico disminuyen con la edad siendo muy elevadas en la fase de los 20 a los 50 kg (18%), cuando la deposición de tejido magro es mayor, y mucho menores a partir de los 100 kg (\approx 13-14%). La relación deposición de proteína consumición de energía, es curvilínea hasta llegar un punto en que cuanto más pequeño es el suministro de energía por encima del mantenimiento, mayor es la fracción asignada a deposición de proteína (Coma y Bonet., 2004). Además debemos tener en cuenta en la nutrición animal, las necesidades de vitaminas y minerales para asegurar un rendimiento óptimo de los animales.

1.3.2 Gestión del agua

En las necesidades nutricionales del cerdo, el agua es el primer elemento a considerar, y tenemos que asegurarnos de su correcta disponibilidad. Es muy importante tener en cuenta las necesidades de agua en cada fase productiva, ya que, ésta puede jugar un papel importante en la optimización de los rendimientos productivos. Las necesidades de agua varían dependiendo del estadio de producción. Un buen suministro de agua es necesario porque mejora el consumo de pienso y actúa en numerosos procesos metabólicos que tienes que ver con la gestión del N en el animal, como son la síntesis de proteínas o el mantenimiento y regulación de la temperatura.

El consumo de agua de un cerdo sano es aproximadamente 1 litro por cada 10 Kg de peso vivo (Muirhead y Alexander, 1997). Los cerdos enfermos no sólo disminuyen el consumo de pienso sino que también disminuyen el consumo de agua, de ahí la importancia de asegurar un aporte óptimo y controlar a diario el consumo del agua para anticipar la aparición de problemas patológicos, ya que, antes de la aparición de los síntomas el consumo disminuye (Pedersen y Madsen, 2001). Tan importante como asegurar un caudal determinado es asegurar un flujo (Muirhead y Alexander, 1997).

1.3.3 Fuentes proteicas utilizadas en piensos de porcino, y nuevas alternativas

En general, las fuentes proteicas utilizadas en piensos pueden ser de dos orígenes:

- De origen animal que incluyen las harinas de pescado, los subproductos de la leche, los subproductos de la sangre y la harina de carne y huesos, entre otras.
- De origen vegetal como la harina de soja, girasol, guisante y las de aparición más reciente como los subproductos de la industria de los biocombustibles (DDGS de cereales y harinas de colza).

Europa el año 2000 las harinas de carne y hueso así como los subproductos de la sangre, fueron prohibidas (Decisión 200/766/CE) en piensos para todos los animales de renta por su relación con la transmisión de la encefalopatía espongiforme bovina (EEB).

Actualmente, debemos centrarnos en la búsqueda de nuevas fuentes proteicas alternativas, de origen vegetal en la alimentación de cerdos de cebo, debido no solo a la restricción normativa hacia las fuentes proteicas de origen animal, sino a nuevas escaladas del precio de los piensos debido a medidas más restrictivas para la importación de soja en la Unión Europea (UE).

La harina de soja de alta proteína (47-48% PB) la fuente proteica vegetal más utilizada hasta la fecha, se obtiene sometiendo al haba de esta leguminosa a un proceso de extracción de la grasa con disolventes. Las harinas de soja estándar (44% PB) resultan de la inclusión parcial de cascarilla en las harinas de alta proteína. El contenido en proteína de la soja varía desde un 38% en el haba entera hasta el 90% en el aislado de proteína (Mawson *et al.*, 1993). La asimilación digestiva de proteína y aminoácidos es alta en todas las especies animales, aumentando ligeramente con el descascarillado, especialmente en animales jóvenes (Noblet *et al.*, 1999). La proteína de la soja es rica en lisina y relativamente deficitaria en metionina y triptófano. En monogástricos existe una correlación negativa entre contenido en factores antinutricionales y la disponibilidad de aminoácidos esenciales, así como una correlación positiva entre nivel de proteína de la soja y la digestibilidad de la misma (Noblet *et al.*, 1999).

Diversos estudios están valorando la posibilidad de utilizar otras fuentes proteicas procedentes en su mayoría de leguminosas u oleaginosas sometidas a un proceso de extracción de aceite (harinas o tortas). Además el auge de las industrias de biocombustibles en los últimos años ha provocado la aparición en grandes cantidades de ingredientes como los granos secos de destilería (DDGS) procedentes de la fermentación de cereales para la producción de bioetanol, o la harina de extracción de girasol, una de las fuentes nutricionales mejor valoradas hasta ahora, que se obtiene como subproducto de la extracción de aceite de girasol (Spiehs *et al.*, 2002).

La harina de extracción de girasol, representa el principal concentrado de proteína vegetal de origen nacional. Su contenido en factores antinutritivos es muy bajo. Solo se ha detectado como tal el ácido clorogénico. La fracción proteica (28-36%) tiene una elevada utilización digestiva en todas las especies al no encontrarse ligada a la pared celular, aunque los coeficientes de digestibilidad de proteína y aminoácidos tienden a disminuir con el contenido en fibra de la harina. La proteína es deficitaria en lisina pero rica en aminoácidos azufrados y triptófano, por lo que se complementa bien con la de leguminosas (FEDNA, 2006).

Los DDGS o granos secos de destilería con solubles de cereales procedentes de la obtención de bioetanol por fermentación y destilación son uno de los subproductos con mejores rendimientos proteicos. Se obtienen mediante secado de los residuos del proceso de etanol para su utilización como biocombustible, a partir de ingredientes ricos en almidón como son los cereales. De este proceso productivo basado en la fermentación de los almidones y azúcares del cereal se obtiene un producto con un contenido reducido en hidratos de carbono y con una concentración proporcional (entre 2,3 y 3 veces superior) al resto de nutrientes con respecto al grano original, contienen fundamentalmente residuos no fermentados de los granos originales, levaduras, nutrientes solubles y las partículas de granos más finas. El valor nutricional de los DDGS es muy variable. Esta variabilidad depende del cereal origen, la variedad, el proceso de obtención, etc. entre plantas y dentro de una planta es bastante variable, con un rango de valores comprendido entre 87-93% para materia seca, 23-30% para proteína bruta, 3-12% para grasa bruta, 3-6% para cenizas y 0,59-089% para lisina (Spiels et al., 2002).

Los límites de inclusión de estos ingredientes recomendados en la bibliografía están relacionados en su mayoría con la presencia de factores antinutricionales en este tipo de ingredientes y sus efectos sobre los rendimientos productivos (consumo y crecimiento). La harina de soja es actualmente la fuente proteica más utilizada en piensos para cerdos de cebo en la actualidad debido a su adecuado nivel de proteína y perfil de AA, pero como hemos comentado anteriormente, esto podría cambiar debido a las modificaciones socioeconómicas a las que nos vemos ligados (Mawson et al., 1993).

Se ha demostrado que la composición de purín de cerdo es heterogénea y que la proporción de los diferentes componentes en suspensión depende en gran medida de la dieta. Por tanto una mejor caracterización de los componentes químicos de los purines (alimentación ingesta, fracción de N en las heces y la orina, N microbiano y urea) podría mejorar la predicción de las emisiones de contaminantes tanto en granja, como en almacenamiento o en su aplicación al suelo (Canh et al., 1997).

2. OBJETIVOS

El objetivo principal del presente proyecto es comparar los efectos de 3 dietas de igual valor nutricional en cerdos de cebo, modificando los ingredientes, y por tanto el aporte de nitrógeno ligado a fibra de la ración y la fuente proteica, sobre:

- Parámetros productivos
- Cantidades de purín.
- Las emisiones de NH₃.

Llevado a cabo, mediante ensayos de digestibilidad en jaulas metabólicas, para evaluar el efecto de las distintas estrategias de alimentación en la emisión de estos gases. Para ello, se realizaron estudios experimentales controlados sobre los efectos de la inclusión de subproductos agroindustriales en dietas para cerdos en la composición del estiércol y emisiones de gases.

Modificación de la calidad del nitrógeno en dietas para cerdos de engorde: efectos sobre los parámetros productivos y las emisiones de amoníaco del purín

3. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 Dietas

Para evaluar el efecto de la inclusión de subproductos agroindustriales en dietas para cerdos de engorde sobre las características del purín y sus emisiones de NH₃, se formularon un total de 3 piensos que incluían distintas fuentes de proteína (Soja, DDGS y Girasol), para cerdos de cebo. Los piensos se elaboraron en la planta experimental de fabricación de piensos de la Universitat Politècnica de València (UPV), con diferentes subproductos, pero equivalente valor energético, seleccionadas en función de su composición y su interés en ese momento en el mercado (disponibilidad y precio).

Las dietas se formularon siguiendo las Normas FEDNA (2006) y teniendo en cuenta el nivel de inclusión de distintos ingredientes proteicos (3 niveles: DDGS trigo, harina de girasol 34, y soja 44 + cascarilla de soja). Los ingredientes de cada una de estas dietas se describen en la **tabla 1**.

El número de tratamientos y, por tanto, la utilización de los piensos, se describe a continuación:

- DDGS: Inclusión de DDGS trigo.
- GIR: Inclusión harina de girasol 34.
- SOJA: Inclusión de soja y cascarilla de soja.

Ingredientes	SOJA	GIR	DDGS
TRIGO 12.9 PB	0,00	76,25	50,60
MAIZ	55,18	0,0	16,44
CEBADA 12.3 PB	0,00	0,00	7,05
HNA.SOJA 41.5	26,15	0	0
HNA.GIRASOL 34.7	0	16,75	0
DDGS TRIGO 33.7	0	0	19,82
CASCARILLA SOJA 9.8	11,94	0	0,0
MANTECA	3,26	3,01	1,80
CARBONATO CALCICO	0,83	1,14	1,23
FOSFATO MONOCALCICO	1,17	0,83	0,85
SAL	0,41	0,41	0,31
DL METIONINA	0,135	0,062	0,110
L-LISINA HCL	0,300	0,752	0,845
L-TREONINA	0,077	0,210	0,261
L-TRIPTOFANO	0,012	0,011	0,042
L-VALINA	0,031	0,078	0,140
PREMIX 0.2	0,50	0,50	0,50

La composición nutricional de cada una de estas dietas se describe en la **tabla**

2.

Composición	SOJA	GIR	DDGS
MAT_SECA	88,0	90,4	90,3
CENIZAS	5,4	5,1	4,8
PB	16,6	16,6	16,5
EE	5,9	4,7	4,3
FB	7,0	5,5	3,7
FND	15,0	15,0	15,0
FAD	8,6	5,5	4,4
LAD	1,1	1,4	1,5
ALMIDON	35,1	43,8	43,4
AZUCARES	2,9	1,8	1,6
C18:2	1,7	1,0	1,3
CA	0,68	0,68	0,68
P	0,58	0,60	0,58
PDIG_PORC	0,32	0,27	0,35
NA	0,18	0,18	0,18
CL	0,34	0,47	0,45
MG	0,15	0,18	0,13
K	0,89	0,51	0,42
EN_PORC	2370	2370	2370
LYS	1,07	1,07	1,07
MET	0,38	0,35	0,35
M+C	0,65	0,66	0,67
THR	0,69	0,70	0,70
TRP	0,20	0,20	0,20
ILE	0,67	0,59	0,55
VAL	0,79	0,78	0,80
LYS_DIS	0,95	0,98	0,97
MET_DIS	0,35	0,31	0,32
M+C_DIS	0,57	0,59	0,58
THR_DIS	0,61	0,62	0,62
TRP_DIS	0,17	0,17	0,18
ILE_DIS	0,57	0,51	0,50
VAL_DIS	0,67	0,69	0,68
FIBRA SOLUBLE	5,00	4,65	5,52
N-FND (%)	1,07	1,52	2,40
N-FND (%PB)	6,44	9,16	14,55

3.2 Ensayos de digestibilidad

3.2.1 Ubicación

Los ensayos se llevaron a cabo con 12 jaulas metabólicas ubicadas en una habitación a temperatura controlada de la unidad de porcino (**Figura 1**), en el Centro Experimental de Investigación y Tecnología Animal (CITA-IVIA) perteneciente al Instituto Valenciano de Investigaciones Agrarias (IVIA), ubicado en Segorbe (Castellón). Los animales se colocaron individualmente en jaulas metabólicas durante

5 días para la adaptación seguidos por un período de recogida de muestras de 8 días aproximadamente, de acuerdo a Jarret et al. (2010).



Figura 1. Jaulas metabólicas donde se llevo a cabo el ensayo

3.2.2 Animales

Cada tratamiento ensayado, utilizó 8 animales por tratamiento, 24 animales en total (8*3 tratamientos), y se realizaron 2 tandas de 4 animales por tratamiento, de alrededor de 40-50 kg de peso en vivo con el fin de obtener una cantidad representativa de muestras por tratamiento. Los animales se pesaron el día de inicio de adaptación en corrales y el día de subida a jaulas (**Figura 2**), es decir, 5 días antes de la recogida de muestras para el balance de digestibilidad y al final de cada tanda (tras los 8 días de periodo experimental).



Figura 2. Balanza de pesado de los cerdos.

3.2.3 Periodo experimental

El período de adaptación al pienso duró un total de 14 días, de acuerdo con Cerisuelo et al. (2010). Este período de adaptación constó de dos fases: 9 días de adaptación al pienso en los corrales colectivos (grupos de 4 animales) (**Figura 3**), tras los cuales se subió a los animales a las jaulas durante un período de 5 días de adaptación.



Figura 3. Corralinas de la sala de cebo donde se realizó la adaptación en corral.

Una vez en jaulas metabólicas, se realizó la recogida de muestras, que duró un total de 7 días: 4 días para digestibilidad y 3 días para emisión de gases. La duración de las 2 tandas fue de un total de 45 días.

Durante los 14 días de adaptación y los 7 días de recogida de muestras los animales fueron alimentados con los piensos experimentales. Durante el periodo de adaptación el pienso se ofreció *ad libitum* y durante el periodo experimental (8 días) se controló el consumo diario de pienso. El agua se limitó a 7L/día como máximo a todos los animales durante el periodo experimental. Diariamente se cuantificó el consumo de agua.

3.2.3.1 Ensayo de digestibilidad

Se realizó durante los 4 primeros días de recogida. Las heces y la orina de cada uno de los animales se recogió de manera individual y por separado una vez al día. El bote de la orina se rellenó con ácido sulfúrico cada vez que se recogía la orina para acidificarla y evitar pérdidas de NH_4^+ (30 mL ácido sulfúrico 10% en 1 L de orina; Jarret et al., 2012). El total de orina y heces producido por animal se pesó y almacenó en refrigeración (**Figura 4**) hasta el final del este primer periodo de recogida (4 días).



Figura 4. Labores de recogida durante el muestreo en jaulas.

3.2.3.2 -Ensayo de emisiones

Durante los 3 últimos días del periodo de recogida, se almacenaron purines para llevar a cabo posteriormente el ensayo de emisiones. Las heces y la orina de cada uno de los animales se recogió de la misma manera, pero esta vez sin acidificar la orina para no interferir en el proceso de emisión de NH_3 . Nuevamente el total de orina y heces producido por animal fue pesado y almacenado en refrigeración hasta el final del periodo de recogida.

Una vez terminado el periodo de recogida, se realizó un pool de heces y otro de orina por animal. Una parte del pool de cada animal se mezcló según la ratio original de excreción por animal (ratio por animal acumulada de los 3 días de recogida) para la medición de las emisiones de NH_3 (**Figura 5**). Una vez realizado el purín artificial por animal se realizó un pool por tratamiento y tanda.



Figura 5. Labores de realización del purín.

3.3 Emisiones de NH₃

El potencial de emisión de NH₃ (mg/día por L de purín) se determinó por duplicado mediante el método de cámara dinámica durante 11 días consecutivos, siguiendo la metodología empleada por Pereira *et al.* (2012).

3.3.1 Montaje

Se destinaron aproximadamente 1,2 L de purín al ensayo de emisiones. Se realizó el análisis por duplicado, utilizando un recipiente cerrado, de volumen 1 L. El recipiente se mantuvo herméticamente cerrado excepto por dos orificios, uno de entrada de aire limpio y otro de salida a través de un tubo de polietileno de 8 mm de diámetro interior, tal como se puede observar en la **Figura 6**:

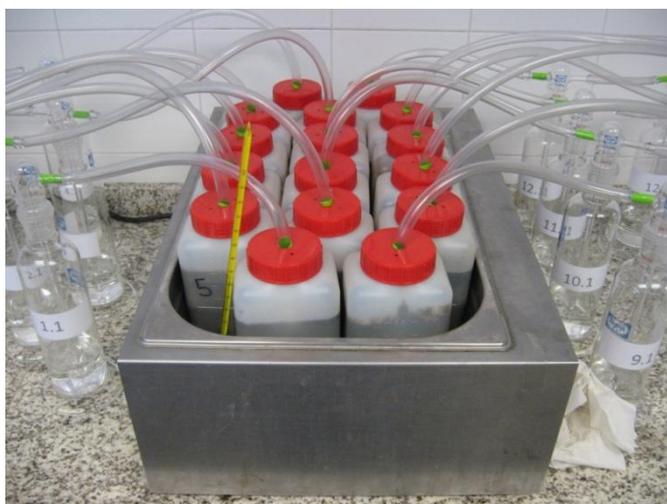


Figura 6. Baño con muestras de purín del ensayo de emisión de NH₃. Detalle de borboteadores y conducciones.

Al final de la línea de salida de aire se colocó una bomba de aspiración modelo ZA.32 9210003 (DVP, Taiwan) con capacidad de aspiración de 32 L/min en flujo libre (**Figura 7**), y se realizó un montaje a base de conducciones y válvulas para conseguir 8 líneas con caudal constante de aproximadamente 1L/min.

Cada una de las líneas extrajo aire de forma continua de cada recipiente de purín, haciéndolo pasar a través de dos frascos borboteadores (impingers) con una solución de ácido sulfúrico 0,1N (aproximadamente 100 mL), colocados en serie, tal como indica la **Figura 7**. En esta solución quedó retenido el amoníaco y se analizó. Tras los frascos se situó un filtro de aire modelo 7037001 (DVP, Italia) que protege la

bomba de aspiración. El caudal se verificó y reguló diariamente mediante un medidor de caudal modelo Rota (Yokogawa, Alemania).



Figura 7. Esquema de funcionamiento del ensayo de emisión de NH_3 . Detalle de bomba, borboteadores, filtro y conducciones.

Las condiciones de temperatura del ensayo se mantuvieron constantes en 24°C mediante un baño modelo Precistern (J. Selecta p, España). La duración total de la prueba fue de 15 días. La solución de ácido sulfúrico 0,1N se cambió cada día.

3.3.2 Análisis de NH_3 de las muestras diarias

Para determinar la cantidad de NH_3 de la muestra, se utilizó una sonda de medición del amoníaco (Orion High Performance Ammonia Electrode) modelo 9512HPBNWP (Thermo Scientific, USA) y el procesador de información (Orion Dual Star Meter) modelo 2115000 (Thermo Scientific, USA). En la **Figura 8** se muestran los distintos materiales utilizados para la determinación de la emisión de NH_3 en las muestras.

Modificación de la calidad del nitrógeno en dietas para cerdos de engorde: efectos sobre los parámetros productivos y las emisiones de amoníaco del purín

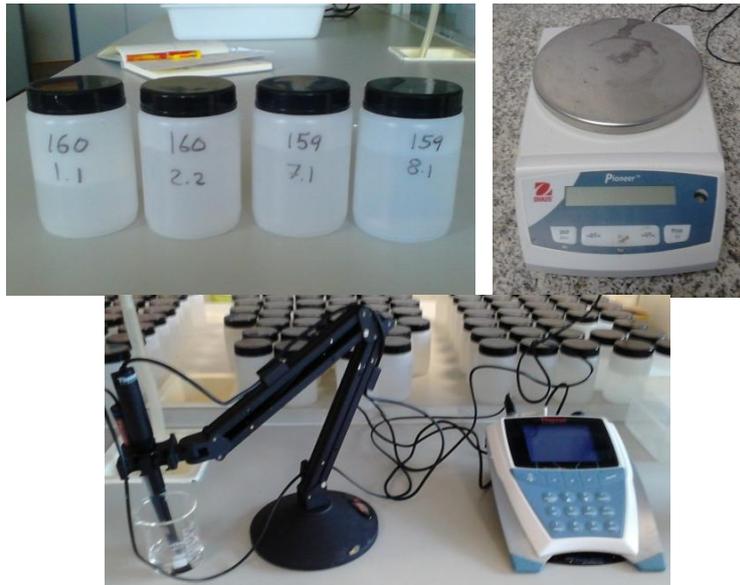


Figura 8. De izquierda a derecha: Botes de recogida de ácido sulfúrico de capacidad 250 mL. Báscula de medida. Sonda de medición de NH₃ y procesador de información.

Durante la determinación analítica se midió también la evolución del pH antes y después de la emisión, mediante un PH-metro modelo BASIC 20 (Crison, España)

Figura 9.

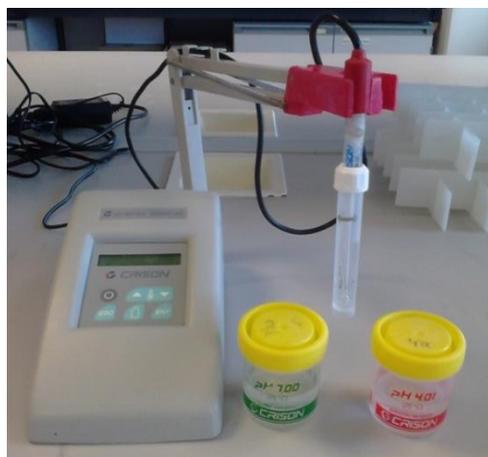


Figura 9. PH-metro con dos soluciones tampón de calibración (pH=7 y pH=4).

3.4 Tratamiento estadístico

El tratamiento de los datos se ha llevado a cabo mediante la correspondiente técnica del Análisis de la Varianza (ANOVA) factorial, en el que los efectos principales considerados fueron el tratamiento y la tanda. También se analizó la interacción tratamiento*tanda. La significación de las diferencias entre tratamientos se determinó mediante el test de intervalos de LSD al 95% de probabilidad, las medias se han expresado con sus correspondientes desviaciones estándar, utilizando el programa informático STATGRAPHICS Plus 5.0 para todos los cálculos estadísticos.

Modificación de la calidad del nitrógeno en dietas para cerdos de engorde: efectos sobre los parámetros productivos y las emisiones de amoníaco del purín

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Es importante destacar que el estudio tuvo lugar entre los meses de mayo y junio y que la temperatura media registrada en el interior de la nave a las 9h fue de 21,1 °C. Debido a la influencia de la temperatura ambiental en los rendimientos productivos (Santomá y Pontes, 2004), es importante tener en cuenta que los resultados que se presentan a continuación podrían estar sujetos a las condiciones ambientales de esta época del año.

4.1 Productivos

4.1.1 Consumos crecimientos y peso (GMD)

En la **tabla 3** se muestran los datos de consumo de agua y pienso y los valores de pesos medios, así como la ganancia media diaria (GMD), para cada tratamiento, en cada una de las tandas.

PIENSO	TANDA	Peso animales ¹			GMD_TOTAL	AGUA	PIENSO
		INICIO	FINAL	CONSUMO		CONSUMO	
SOJA	1	45,88	58,75	0,95	4,06	2,27	
SOJA	2	55,30	68,35	1,09	5,27	2,65	
DDG	1	46,20	56,87	0,87	3,80	2,25	
DDG	2	54,90	65,90	0,99	4,34	2,59	
GIRASOL	1	48,07	57,87	0,86	4,72	2,08	
GIRASOL	2	55,45	66,95	1,02	4,80	2,6	

1. Peso de los animales al inicio y final del alojamiento en las jaulas.
2. Consumo de agua y pienso medio durante el ensayo.

Los consumos de agua y pienso que se observan en la tabla, no mostraron diferencias significativas entre tratamientos ($p > 0.05$). Existieron lógicamente diferencias significativas entre las dos tandas realizadas ($p < 0.05$) debido al cambio fisiológico que experimenta el animal con el aumento del crecimiento y la consecuente aumenta de la ingesta diaria de nutrientes. Lo mismo ocurrió con los pesos y las GMD donde el efecto tanda nuevamente vuelve a hacerse visible, las interacciones entre tratamiento y tanda no mostraron diferencias significativas ($p > 0.05$). Observando los

datos por animal, vemos que muchas veces las diferencias entre los valores, parecen responder mucho más a la fisiología interna del animal que a la dieta proporcionada.

En el caso del pienso sabemos que la alimentación por fases productivas es mucho más eficiente, ya que si cambiamos los niveles nutritivos en las dietas con base al aumento o disminución del requerimiento necesario para funciones como crecimiento, gestación, lactancia, o mantenimiento, podemos obtener cantidades de excreción menores, ya que la composición de la dieta es capaz de modificar factores tales como la asimilación de los nutrientes y las tasas de fermentación en el intestino grueso, esto por supuesto también afecta a la emisión de gases (Moller et al, 2004; DiNuccio et al, 2008; Moset et al, 2010b).

Los consumos reflejados en el ensayo de agua parecen ser ligeramente inferiores a los que apuntan otros estudios, ya que normalmente estarían por encima de los 5 litros de agua al día para los niveles de proteína ensayados. Sin embargo los pesos recogidos durante el ensayo, parecen corresponderse con los recogidos en otros ensayos de corte similar (Shaw et al., 2006), estas diferencias podrían deberse a que en este caso se ha llevado a cabo un estricto control del agua, descontando aquella cantidad que el animal desperdicia con el juego, y que podría depositarse junto a la orina, enmascarando los datos.

Las intenciones de este ensayo, de formular tres piensos 3 fuentes de proteínas, pero con un equivalente valor nutricional, eran comprobar si el rendimiento productivo que alcanzaba el animal era el mismo, en este caso parece que se cumple al no existir diferencias significativas entre los pesos y GMDs en los distintos tratamientos. Es importante tener en cuenta las diferencias de GMD, ya que el retraso en el crecimiento que se presenta en los cerdos durante su vida productiva puede ejercer mayor impacto sobre la excreción de nutrientes en granja, ya que cuanto mayor sea el número de días que un cerdo este en la granja y este consumiendo alimento antes de ser enviado matadero, mayor será la producción de heces y orina en la granja, y mayor impacto medioambiental y económico. Por tanto es necesario optimizar el tiempo de engorde y coste que supone para el ganadero el nivel de emisiones del animal. Los valores obtenidos son importantes en este sentido, sin embargo la dieta no es un único factor a tener en cuenta, muchos factores pueden ocasionar retraso en el crecimiento de los cerdos, como factores fisiológicos, genéticos, nutricionales, inmunológicos, y ambientales.

4.1.2 Heces-Orina

En la **tabla 4** se muestran los datos de peso de las heces y la orina expresadas en Kg, utilizadas en el ensayo de digestibilidad y en el de emisiones, así como los valores totales, por cada tratamiento, en las dos tandas realizadas.

Tabla 4. Pesos de orina y heces (Kg/día) durante el ensayo

PIENSO	TANDA	ORINA			HECES		
		TOTAL	DIG ¹	EM ²	TOTAL	DIG ¹	EM ²
SOJA	1	1,32	1,34	1,30	0,91	1,03	0,75
SOJA	2	2,27	2,15	2,44	0,76	0,74	0,77
DDG	1	1,56	1,45	1,71	0,86	0,88	0,84
DDG	2	1,98	1,98	1,98	0,75	0,72	0,78
GIRASOL	1	2,14	2,05	2,25	0,78	0,80	0,76
GIRASOL	2	2,64	2,62	2,68	0,69	0,69	0,68

1. DIG: valores obtenidos durante el ensayo de digestibilidad.
2. EM: valores obtenidos durante el ensayo de emisiones.

Los datos sobre el peso de las deyecciones, recogido en la tabla anterior, no mostraron diferencias significativas para cada uno de los tratamientos aplicados, tandas, ni tampoco para la interacción de estos efectos ($p > 0.05$).

Se han obtenido en general, pesos bajos tanto en orina como fundamentalmente en heces, si las comparamos con otros estudios realizados (Shaw et al., 2006). Es necesario tener en cuenta el volumen de las heces, ya que estas pueden ejercer un impacto ambiental importante debido a gran cantidad de animales que habitan en una granja. En ese sentido parece que los tratamientos ensayados presentarían una mejora por su disminución en el volumen de las heces (menores emisiones de amoníaco, metano y dióxido de carbono). Esto a su vez se transformaría en menores riesgos directos a los propios animales de la explotación, ya que el amoníaco es irritante por lo que tiende a producir malestar en los cerdos. Ensayos como los realizados por Drummond et al., (1980) constataron un decrecimiento (del 12 al 30%) en la ganancia diaria de peso de cerdos alojados en lugares con concentraciones crecientes de amoníaco (50, 100 y 150 ppm). En este caso no debemos preocuparnos, al tratarse de una granja experimental, con unas condiciones higiénico-sanitarias controladas, y escaso número de animales, aunque en todo caso, no se han hallado evidencias de estos efectos.

4.2 Emisiones

En los ensayos de emisión de NH_3 , se deben tener en cuenta diversos factores, a la hora de interpretar los resultados. Además de la nutrición, los factores ligados a las instalaciones afectan principalmente al contenido de agua de las heces, así como a la emisión de gases, dependiendo de las condiciones de humedad y temperatura en que se encuentre la sala.

Mediante los datos de emisiones que se producen en las deyecciones animales, se deben interpretar los datos productivos obtenidos al medir los consumos, pesos y excreciones de los animales. Las diferencias entre tratamientos, podrían ejercer diferencias en la cantidad total de N, N-NH_4^+ , N orgánico y las fracciones de N orgánico soluble en porcino como demuestran algunos estudios (Portejoie et al, 2004; Velthof et al, 2005; Kerr et al, 2006).

4.2.1 pH y nitrógeno amoniacal del purín

Los resultados de las medidas de NH_3 y de los pH iniciales y finales en el purín, heces frescas y orina fresca, se muestran en la **Tabla 5**.

Tabla 5. Medidas de NH_3 en mg/l y pH de heces, orina y purín durante el ensayo.

PIENSO	TANDA	pH orina	pH heces	pH Purín		NH ₃ en purín	
				pH ini.	pH fin.	NH ₃ ini.	NH ₃ fin.
SOJA	1	7,04	6,05	6,44	6,21	1484	5836
SOJA	2	6,84	6,20	6,54	7,14	1227	4617
DDG	1	5,64	6,28	6,01	6,80	3095	8122
DDG	2	5,64	6,68	6,23	7,16	1727	5731
GIRASOL	1	6,39	6,40	6,54	7,05	2821	8229
GIRASOL	2	6,26	6,50	6,67	7,41	1855	6334

En este caso, los datos muestran diferencias significativas según el tratamiento aplicado, y tanda ($p < 0.05$) para el pH y NH_3 en purín, pero no para su interacción ($p > 0.05$). El pH inicial, muestra diferencias estadísticamente significativas entre los tres tratamientos, siendo el tratamiento con DDGS en que menores valores de pH inicial en purín obtuvo. Los resultados del pH final en purín, muestran diferencias significativas tanto para tratamientos como para las 2 tandas realizadas, con pH más altos en el tratamiento con proteína a base de girasol, y la segunda tanda del tratamiento con DDGS, se muestran diferencias significativas entre este tratamiento y obtenido a base de proteína de soja. Pero en este caso sorprendentemente los valores

del tratamiento con proteína a base de DDGS muestran valores de pH más altos que el tratamiento con proteína a base de soja. Un dato curioso a observar es la diferencia entre los pH finales e iniciales de los 3 tratamientos, donde se observa que el tratamiento número dos a base de proteína procedente de DDGS presenta un aumento de pH claramente mayor al de los otros dos tratamientos. Ya que su pH inicial era significativamente inferior a los demás. Los aumentos de NH₃ amoniacal en purín fueron mayores en los tratamientos con DDGS y girasol.

Los pH de orina mostraron diferencias significativas entre los 3 tratamientos, siendo el tratamiento con DDGS, el que obtuvo menores valores, en el caso de las heces los pH de los tratamientos de girasol y DDGS mostraron los valores más altos siendo la soja el tratamiento con un pH significativamente más bajo, y existiendo diferencias significativas entre las dos tandas.

Sorprendió durante el muestreo la consistencia pastosa de las heces en el tratamiento de soja, que a su vez muestra una tendencia a la baja en el pH respecto a los otros dos tratamientos en el pH en heces. Esto puede ser debido como así lo apuntan otros estudios, al suministro en la dieta de fibra fermentable como en este caso la cascarilla de soja, reduce el pH fecal (Canh et al, 1998b) y provoca un aumento de la formación de VFA en el intestino grueso (Canh et al, 1998 a, b, c; Kerr et al, 2006.). Esta disminución del pH en el purín, contribuye a reducir las emisiones NH₃ (Canh et al, 1998b), como ocurre exactamente con las emisiones de NH₃ amoniacal, en este caso no hay duda de que el tratamiento de soja muestra los valores de emisión y pH final, tras el almacenamiento del purín, más bajos.

4.2.2 Emisiones de NH₃

Los Resultados de las medidas de NH₃ en purín realizadas diariamente, así como las de NH₃ acumulado, se muestran en la **Tabla 6**.

Tabla 6. Emisiones de NH₃ (mg/d) durante el ensayo.

TRATAMIENTO	TANDA	NH ₃	Acum. NH ₃
SOJA	1	26,15	873,74
SOJA	2	63,80	1029,06
DDGS	1	69,91	272,75
DDGS	2	93,75	657,06
GIRASOL	1	83,78	729,07
GIRASOL	2	99,92	965,53

1. Datos de NH₃ acumulado

La tabla muestra valores de emisión significativamente más altos en los tratamientos con proteína a base de girasol, y a base de DDGS que en el tratamiento de soja ($p < 0.05$), se observan diferencias significativas entre tandas ($p < 0.05$), pero no entre su interacción. El efecto tanda es nuevamente visible, ya que se trata de animales con un peso significativamente distinto a los de la primera tanda y por tanto con unas necesidades nutricionales y una capacidad de asimilación de nutrientes distinta a la segunda.

Si observamos los datos por animal, vemos que existen niveles de emisión de NH₃ muy dispares, probablemente debido a las diferencias entre la capacidad de asimilación de nutrientes y a la cantidad de nitrógeno endógeno que emite el animal. Aunque estas diferencias parecen ir en concordancia con el tratamiento aplicado. Es necesario analizar la composición de orina y heces de este estudio para obtener conclusiones más definitivas en cuanto al efecto de estas dietas en las emisiones de NH₃, lo cual está fuera del alcance de este trabajo final de máster.

Es bien conocido que la retención de nitrógeno depende de la ratio energía: proteína o energía: lisina del pienso de manera que, a partir de un punto, un exceso de nitrógeno no es retenido si no se aporta un extra de energía (Noblet et al., 1999). Gran parte de los estudios apuntan a que más de la mitad del N ingerido se excreta en forma de NH₃ en la orina y las heces (Cahn et al, 1998a, b; Van der Peet-Schwering et al, 1999). Otros autores como Portejoie et al. (2004) obtuvieron unos porcentajes de excreción de N en heces de 15,3% y 14,4% para dos niveles de proteína diferentes

(51 y 63,8 g/d respectivamente). Sin embargo, en el estudio de este mismo autor los porcentajes de excreción de N en orina fueron mayores, representando hasta un 38,8% del N consumido. El balance de N obtenido en otros estudios como el de Dourmad et al. (1999) se encuentran porcentajes de nitrógeno en heces y orina de un 60-70% del nitrógeno total ingerido en la dieta.

Gran cantidad de autores proponen incrementar la digestibilidad de las dietas para reducir las pérdidas de nitrógeno por excreción. Esto podría conseguirse con buenas fuentes de fibra, o a su vez reducir los niveles de proteína en la dieta (Jongbloed et al 2007). En nuestro caso observando los valores del ensayo de digestibilidad, vemos que pese a ser dietas isoenergéticas, las pérdidas de nitrógeno en el tratamiento de soja son menores, y por tanto estos datos apuntan a una mayor absorción de N y digestibilidad de la dieta, aunque estos valores no se vieron reflejados en los valores de peso realizados en este ensayo, ya que como hemos visto antes, no mostraron diferencias significativas entre tratamientos.

En el caso del purín, diversos estudios apuntan a que el amoníaco se origina principalmente de la descomposición de la urea en la orina (Jongbloed y Lenis, 1998, Cahn et al, 1997), ya que el N fecal se transforma lentamente en proteína microbiana (N orgánico), mientras que el N urinario (N inorgánico) se transforma rápidamente a NH_3 y se libera. Por lo tanto, la tasa de producción de N para liberar NH_3 es mucho más lenta en el caso del N orgánico, que en el caso de la urea (Aarnink y Verstegen, 2007). Como apuntan los datos ensayados, la emisión de N de excretas porcinas (total N, N-NH_4^+ y microbianos N) pueden alterarse a través de estrategias de alimentación. Variando el contenido de N alimentario se altera la proporción de N excretado en la orina principalmente en forma de urea (Portejoie et al, 2004; Galassi et al, 2010), que como ya hemos dicho, se volatiliza con mayor rapidez que el N orgánico de las heces.

Diversos estudios apuntan que en cerdos de cebo es aproximadamente el 67% del nitrógeno consumido el que se excreta, la vía de excreción del nitrógeno es principalmente urinaria como ya hemos dicho. Por otra parte, se ha demostrado que la adición de fuentes de fibra fermentable como cascarilla de soja en la dieta también afecta a las emisiones de NH_3 , no directamente a la excreción total de N, pero provoca un cambio significativo de N en la orina. Ya que se produce un aumento en la cantidad de urea consumida en la síntesis de proteína microbiana en la parte posterior del intestino, que se excreta en las heces (N orgánico) en lugar de en la orina (Canh et al, 1997; Portejoie et al, 2004; Galassi et al, 2010; Halas et al, 2010). Por lo tanto, se libera más cantidad de N en forma de N orgánico y menos cantidad de N, se elimina

como urea, lo que reduce las emisiones de NH_3 (Canh et al, 1997; Jarret et al, 2010), Esto parece ocurrir en las emisiones de NH_3 en el tratamiento de soja es este ensayo, donde producen menores cantidades de emisión de NH_3 que el resto de tratamientos.

El NH_3 proviene del nitrógeno excretado principalmente en la orina y en las heces en mucha menos cantidad, y su tasa de volatilización depende de la relación existente entre los iones amonio y amoníaco la cual depende del pH de la excreta. Un pH más bajo parece desembocar en niveles más bajos de emisión de NH_3 en el tratamiento de soja con niveles más bajos de emisión, no ocurre así en el pH de la orina, significativamente más alto que los demás tratamientos, pero sin embargo si existe un descenso en el pH fecal.

Los resultados de los diferentes ensayos experimentales se servirán en un futuro, para añadir variabilidad en la composición de la dieta básica de los cerdos, y para parametrizar y validar modelos de las emisiones de gases en función de la composición de estiércol. Además, estos experimentos proporcionarán datos científicos que contienen información esencial sobre la mitigación de los purines y la contaminación gaseosa a través de los cambios en la composición de la alimentación. A continuación se presentan los resultados del ensayo de digestibilidad, así como de las emisiones de NH_4^+ y pH que se producen durante el mismo.

5 CONCLUSIONES

Una vez analizados los resultados de este estudio se pueden extraer las siguientes conclusiones:

- No se han detectado diferencias entre las tres dietas ensayadas en los distintos parámetros productivos de consumos de pienso y agua, pesos, crecimiento y excreción de orina y heces.
- Los purines asociados a los piensos que incorporaron girasol y DDGS tuvieron mayores emisiones de NH_3 que el pienso a base de soja.
- Las diferencias en el nitrógeno ligado a fibra entre los piensos y las variaciones del pH en la orina y heces excretados puede explicar la variación encontrada en las emisiones de NH_3 .

Modificación de la calidad del nitrógeno en dietas para cerdos de engorde: efectos sobre los parámetros productivos y las emisiones de amoníaco del purín

6 AGRADECIMIENTOS

Este estudio se ha realizado con la financiación del Ministerio de Ciencia e Innovación a través del Proyecto GasPorc AGL2011-30023-C03 y la Conselleria de Educación, Formación y Empleo a través de la Ayuda Complementaria ACOMP/2013/118.

Modificación de la calidad del nitrógeno en dietas para cerdos de engorde: efectos sobre los parámetros productivos y las emisiones de amoníaco del purín

7 BIBLIOGRAFIA

Aarnink, A.J.A., Verstegen, M.W.A. 2007. Nutrition, key factor to reduce environmental load from pig production. *Livest. Sci.* 109: 194-203.

Amon, M., Dobeic, M., Misselbrook, T.H., Pain, B.F., Phillips, V.R., Sneath, R.W., 1995. A farm scale study on the use of De-odorase for reducing odour and ammonia emissions from intensive fattening piggeries. *Bioresource Tech.* 51: 163-169.

AOAC., 2000. Official methods of analysis. 15th Ed. Harwitte W. (ed.) Association of official analytical chemist. Washington (EEUU).

Babot D., Andres-Elias, N., de la Peña-Gallego, L., Roberto-Chávez, E., 2004. Técnicas de gestión medioambiental en producción porcina. Proyecto TRAMA (LIFE). Ed: Fundació Catalana de Cooperació.

Cabassi, G., Marino, P. Barzaghi, S., Cattaneo, T.M.P., Bechini, L., 2008. Near infrared monitoring of mineralization of liquid dairy manure in agricultural soils. *J. Near Infrar. Spect.* 16: 59-69.

Canh, T.T., Aarnink, A.J.A., Mroz, Z., Jongbloed, A.W., Schrama, J.W., Verstegen, M.W.A., 1998 b. Influence of electrolyte balance and acidifying calcium salts in the diet of growing-finishing pigs on urinary pH, slurry pH and ammonia volatilization from slurry. *Livest. Sci.* 56: 1-13.

Canh, T.T., Aarnink, A.J.A., Schutte, J.B., Sutton, A.L., Langhout, D.J., Verstegen, M.W.A., Schrama, J.W., 1998 d. Dietary protein affects nitrogen excretion and ammonia emission from slurry of growing-finishing pigs. *Livest. Sci.* 56: 181-191.

Canh, T.T., Aarnink, A.J.A., Verstegen, M.W.A., Schrama, J.W., 1998 a. Influence of dietary factors on the pH and ammonia emission of slurry from growing-finishing pigs. *J. Anim. Sci.* 76: 1123-1130.

Canh, T.T., Sutton, A.L., Aarnink, A.J.A., Verstegen, M.W.A., Schrama, J.W., Bakker, G.C.M., 1998 c. Dietary carbohydrates alter the faecal composition and pH and ammonia emission from slurry of growing pigs. *J. Anim. Sci.* 76: 1887-1895.

Canh, T.T., Verstegen, M.W.A., Aarnink, A.J.A., Schrama, J.W., 1997. Influence of dietary factors on nitrogen partitioning and composition of urine and faeces of fattening pigs. *J. Anim. Sci.* 75: 700-706.

Cárdenas, L.M., Chadwick, D., Scholefield, D., Fychan, R., Marley, C.L., Jones, R., Bol, R., Well, R., Vallejo, A., 2007. The effect of diet manipulation on nitrous oxide and methane emissions from manure application to incubated grassland soils. *Atmosph. Environ.* 41: 7096-7107.

Cerisuelo, A., Castelló, L., Moset, V., Martínez, M., Hernández, P., Piquer, O., Gómez, E., Gasa, J., Lainez, M., 2010. The inclusion of ensiled citrus pulp in diets for growing pigs: Effects on voluntary intake, growth performance, gut microbiology and meat quality. *Livest. Sci.* 134: 180-182.

Cerisuelo, A., Lainez, M., Torres, A., Moset, V. Increasing energy and lysine in diets for growing/finishing pigs in hot environmental conditions: consequences on performance, digestibility, slurry composition and gas (carbon dioxide, ammonia and methane) emission. Unpublished.

Christensen, K., Thorbeck, G., 1987. Methane excretion in growing pigs. *Br. J. Nutr.* 57: 355-361.

Colina, J.J., Lewis, A.J., Miller, P.S., Fisher, R.L., 2001. Dietary manipulation to reduce aerial ammonia concentrations in nursery pig facilities *J. Anim. Sci.* 79: 3096-3103.

Coma, J., Bonet, J., 2004. Producción ganadera y contaminación ambiental. XX Curso de Especialización FEDNA: Avances en nutrición y alimentación animal. Fira de Barcelona, España. 237-272.

Degré, A., Verhève, D., Debouche, C., 2001. Emissions gazeuses en élevage porcin et modes de réduction: revue bibliographique. *Biotechnol. Agron. Soc. Environ.* 5: 135-143.

Dierick, N.A., Vervaeke, I.J., Decuypere, J.A., Henderickx, H.K. 1990., Bacterial protein synthesis in relation to organic matter digestion in the hindgut of growing pigs; contribution of hindgut fermentation to total energy supply and growth performances. *J. Anim. Phys. Anim. Nutr. (Berl.)* 63: 220-235.

Dinucio, E., Berg, W., Balsari, P., 2008. Gaseous emissions from the storage of untreated slurries and the fractions obtained after mechanical separation. *Atmosph. Environ.* 42:2448-2459.

DOGC, 2010. AAR/506/2010, de 2 de novembre, per la qual s'estableixen els criteris per a l'aplicació dels nivells de reducció en l'excreció de nitrogen del bestiar porcí mitjançant la millora de l'alimentació, d'acord amb l'annex 2 del Decret 136/2009, d'1 de setembre, d'aprovació del programa d'actuació aplicable a les zones vulnerables en relació amb la contaminació de nitrats que procedeixen de fonts agràries i de gestió de les dejeccions ramaderes.

Dourmad, J.Y., Henry, Y., Bourdon, D., Quiniou, N., Guillou, D., 1999. Nitrogen and phosphorus consumption, utilisation and losses in pig production: France. *Livest. Prod. Sci.* 58: 199-211.

Estellés, F., Calvet, S., Blumetto, O., Rodríguez-Latorre, A.R., Torres, A.G., 2009. Technical Note: A flux chamber for measuring gas emissions from rabbits. *World Rab. Sci.* 17(3): 169-179.

European Commission, 2003. Integrated Pollution Prevention and Control. Reference Document on Best Available Techniques for Intensive Rearing of Poultry and Pigs. pp. 1-383.

FAO., 2001. Soil carbon sequestration for improved land management. *World Soil Resources Reports 95*. Food and Agriculture Organisation. Rome, Italy.

FEDNA., 2006 Necesidades nutricionales para ganado porcino: Normas FEDNA. C. de Blas, J. Gasa and G.G. Mateos. FEDNA, Madrid.

FEDNA., 2010. Tablas FEDNA de Composición y Valor Nutritivo de Alimentos para la Fabricación de Piensos Compuestos, 3º ed. C. de Blas, G.G. Mateos, P. García-Rebollar (Coord.). FEDNA, Madrid.

Fliebbach, A., Oberholzer, H.R., Gunst, L., Mäder, P., 2007. Soil organic matter and biological soil quality indicators after 21 years of organic and conventional farming. *Agric. Ecosyst. Environ.* 118: 1

Galassi, G., Colombini, S., Malagutti, L., Grovotto, G.M., Rapetti, L., 2010. Effects of high fibre and low protein diets on performance, digestibility, nitrogen

excretion and ammonia emission in the heavy pig. *Anim. Feed Sci. Techn.* 161: 140-148.

García-Martínez, R., Ranilla, M.J., Tejido, M.L., Carro, M.D., 2005. Effects of disodium fumarate on in vitro rumen microbial growth, methane production and fermentation of diets differing in their forage:concentrate ratio. *Br. J. Nutr.* 94: 71–77.

Halas, D., Hansen, C.F., Hampson, D.J., Kim, J.C., Mullan, B.P., Wilson, R.H., Pluske, J.R., 2010. Effects of benzoic acid and inulin on ammonia-nitrogen excretion, plasma urea levels, and the pH in faeces and urine of weaner pigs. *Livest. Sci.* 134: 243-245.

Hansen, M.J., Chwalibog, A., Tauson, A.H., 2007. Influence of different fibre sources in diets for growing pigs on chemical composition of faeces and slurry and ammonia emission from slurry. *Anim. Feed Sci. Tech.* 134: 326-336.

INRA., 2004. *Tablas de Composición y de Valor Nutritivo de las Materias Primas Destinadas a los Animales de Interés Ganadero*. D. Sauvant, J.M. Perez, G. Tran (Eds.). Ediciones Mundi Prensa, Madrid. Intergovernmental Panel on Climate Change.

IPCC 2006., 2006 IPCC Guidelines for national greenhouse gas inventories, Prepared by the national greenhouse gas inventories programme (ed. HS Eggleston, L. Buendia, K. Miwa, T. Ngara and K. Tanabe). IGES, Hiyama.

Japan. ISO 1994. Accuracy (trueness and precision) of measurement models and results. Part 2: Basic method for the determination of repeatability and reproducibility of a standard measurement method. ISO Standard 5725-2. International Organization for Standardisation, Geneva.

Jarret G., Martinez J., Dourmad J-Y., 2010. Effect of biofuel co-products in pig diets on the excretory patterns of N and C and on the subsequent ammonia and methane emissions from pig effluent. *Animal* doi:10.1017/S1751731110002041.

Jongbloed, A.W., 2007. Environmental pollution control in pigs by using nutrition tools. *Rev. Bras. Zootec.* 37: 215-229.

Jongbloed, A.W., Lenis, N.P., 1998. Environmental concerns about animal manure. *J. Anim. Sci.* 76: 2641-2648.

Kerr, B.J., Ziemer, C.J., Trabue, S.L., Crouse, J.D., Parkin, T.B., 2006. Manure composition of swine as affected by dietary protein and cellulose concentrations. *J. Anim. Sci.* 84: 1584-1592.

Kluge, H., Broz, J., Eder, K., 2006. Effect of benzoic acid on growth performance, nutrient digestibility, nitrogen balance, gastrointestinal microflora and parameters of microbial metabolism in piglets. *J. Anim. Phys. Anim. Nutr.* 90: 316-324.

Kristensen, N.B., Nørgaard, J.V., Wamberg, S., Engbæk M., Fernández J. A., Zacho H. D., Poulsen, H.D., 2009. Absorption and metabolism of benzoic acid in growing pigs. *J. Anim. Sci.* 87: 2815-2822.

Leek, A.B.G., Beattie, V.E. and O'Doherty, J.V., 2004. The effects of dietary oil inclusion and oil source on apparent digestibility, faecal volatile fatty acid concentration and manure ammonia emission. *Anim. Sci.* 79: 155-164.

Malley, D.F., Yesmin, L., Eilers, R.G., 2002. Rapid analysis of hog manure and manure-amended soils using near-infrared spectroscopy. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 66: 1677-1686.

MARM. 2010. Inventario de emisiones de gases de efecto invernadero de España e información adicional. Años 1990-2008. Ministerio de Medio Ambiente y Medio Rural y Marino, Madrid.

Mertens, D.R., 2002. Gravimetric determination of amylase-treated neutral detergent fibre in feeds with refluxing beakers or crucibles: collaborative study. *J. AOAC Int.* 85: 1217-1240.

Moller, H.B., Sommer, S.G., Ahring, B.K., 2004. Methane productivity of manure, straw and solid fractions of manure. *Biomass and Bioenergy* 36: 485-495.

Monteny, G.J., Groenestein, C.M., Hilhorst, M.A., 2001. Interactions and coupling between emissions of methane and nitrous oxide from animal husbandry. *Nutr. Cycl. Agroecosys* 60: 123-132.

Morgan, C.A., Whittemore, C.T., 1988. Dietary fibre and nitrogen excretion and retention by pigs. *Anim. Feed Sci. Tech.* 19: 185.

Moset, V.; Cambra-López, M.; Calvet, S.; Cristóbal, A.; Rodríguez, A.; Torres, A. G., 2008. Algoritmos de cálculo de las emisiones de metano y óxido nítrico de la gestión de los purines en explotaciones porcinas bajo condiciones españolas. I Congreso de deyecciones ganaderas. Barcelona 16-18 abril 2008.

Moset, V., Estellés, F., Torres, A. G. and Cerisuelo, A., 2010 a. Characterization and greenhouse gas emission from pig slurry with and without previous solid-liquid separation. International Symposium on Air Quality and Manure Management for Agriculture (ASABE). Dallas (Texas), 12-15 Septiembre 2010.

Moset, V., Torres, L., Torres, A. G. and Cerisuelo, A., 2010 b. Increasing energy and lysine in diets for growing-finishing pigs in hot environments: a preliminary study on its consequences on productive performance, slurry composition and gas emissions. International Symposium on Air Quality and Manure Management for Agriculture (ASABE). Dallas (Texas), 12-15 Septiembre 2010.

Mroz, Z. Moeser A. J., Vreman K., van Diepen J. T. M., van Kempen T., Canh T.T., Jongbloed A.W., 2000. Effects of dietary carbohydrates and buffering capacity on nutrient digestibility and manure characteristics in finishing pigs *J. Anim. Sci.* 78: 3096-3106.

Muirhead, M.R., Alexander, T.J.L. 1997. Managing pig health and the treatment of disease. A reference for the farm. 5M Enterprises Ltd. Sheffield. U.K.

Noblet, J., Karege, C., Dubois, S., Van Milgen, J. 1999. Metabolic utilization of energy and maintenance requirements in growing pigs: effects of sex and genotype. *Journal of Animal Science* 77: 1208-1216.

Patridge, G.C., Gill, B.P., 2001. New approaches with weaner pig diets. In recent Developments in pig Nutrition 3. (ed. P. C. Garnsworthy and J. Wiseman), pp 205-237. Nottingham University Press, Nottingham.

Pereira, J., Misselbrook, T.H., Chadwick, D.R., Coutinho, J., Trindade, H. 2012. Effects of temperature and dairy cattle excreta characteristics on potential ammonia and greenhouse gas emissions from housing: A laboratory study. *Biosyst. Eng.* 112, 138-150.

Pedersen, B.K and T.N. Madsen. 2001. Monitoring water intake in pigs: prediction of disease and stressors. In: R.R. Stowell and R.W. Bottcher (eds)

Proceedings of the Sixth International Livestock Environment Symposium, Amer. Soc. Ag. Eng., St Joseph, MI.

Portejoie, S., Dourmad, J.Y., Martinez, J., Lebreton, Y., 2004. Effect of lowering dietary crude protein on nitrogen excretion, manure composition and ammonia emission from fattening pigs. *Livest. Sci.* 91: 45-55.

Preston, R. L., Bartle, S. J., May, T., Goodall, S.R., 1987. Influence of sarsaponin on growth, feed and nitrogen utilization in growing male rats fed diets with added urea or protein. *J. Anim. Sci.* 65:481– 487.

Quiles, A., Hevia, M.L. 2008. *Producción Animal.* 23(244): 33-44.

Reeves, J.B., 2007. The present status of “quick tests” for on-farm analysis with emphasis on manures and soil: What is available and what is lacking. *Livest. Sci.* 112: 224-231.

Reeves, J.B., Van Kessel, J.S., 1999. Investigations into near infrared analysis as an alternative to traditional procedures in manure nitrogen and carbon mineralization studies. *J. Near Infr. Spect.* 7: 195-212.

Rigolot, C., Espagnol, S., Pomar, C., Dourmad, J.Y., 2010. Modelling of manure production by pigs and NH₃, N₂O and CH₄ emissions. Part I: animal excretion and enteric CH₄, effect of feeding and performance. *Animal* 4: 1401-1412.

Saeys, W., Xing, J., De Baerdemaeker, J., Ramon, H., 2005. Potential for on-site and on-line analysis of pig manure using visible and near infrared reflectance spectroscopy. *Biosyst. Eng.* 91: 393-402.

Santomá, G., Pontes, M., 2004. Interacción nutrición-manejo en explotaciones para aves y porcino. 1 Introducción y factores ambientales. XX^o Curso de especialización FEDNA: Avances en nutrición y alimentación animal. Barcelona 2004. pp 149-210.

Shaw, M.I., Beaulieu, A.D., Patience, J.F., 2006. Effect of diet composition on water consumption in growing pigs. *J ANIM SCI*, 84: 3123-3132.

Smith, D.R., Moore P. A. Jr., Haggard B. E., Maxwell C. V., Daniel T. C., VanDevander K., Davis, M.E., 2004. Effect of aluminum chloride and dietary phytase on relative ammonia losses from swine manure J. Anim. Sci. 82: 605-611.

Sorensen, L.K., Fernández, J.A., 2003. Dietary effects on the composition of pig slurry and on the plant utilization of pig slurry nitrogen. J. Agric. Sci. 140: 343-355.

Sorensen, L.K., Sorensen, P., Birkmose, T.S., 2007. Application of reflectance near infrared spectroscopy for animal slurry analyses. Soil Sci. Soc. Am. J. 71:1398-1405.

Torrallardona, D., Badiola, I., Broz, J., 2007. Effects of benzoic acid on performance and ecology of gastrointestinal microbiota in weaning piglets. Livest. Sci. 108: 201-213.

Van der Peet-Schwering, C.M.C., Jongbloed, A.W., Aarnink, A.J.A., 1999. Nitrogen and phosphorus consumption, utilization and losses in pig production: The Netherlands. Livest. Sci. 58: 213-224.

Van Kempen, T. A., 2001. Dietary adipic acid reduces ammonia emission from swine excreta. J. Anim. Sci. 79: 2412-2417.

Van Soest, P.J., Robertson J.B. and Lewis, B.A., 1991. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. J. Dairy Sci. 74: 3583–3597.

Velthof, G.L., Nelemans, J.A., Oenema, O., Kuikman, P.J., 2005. Gaseous nitrogen and carbon losses from pig manure derived from different diets. J. Environ. Qual. 34: 698–706.

Von Heimendahl, E., Breves, G., Abel, H. 2010., Fiber-related digestive processes in three different breeds of pigs. J. Anim. Sci. 88: 972-981.

Vu, V.T.K., Prapasongsa, T., Poulsen, H.D., Jorgensen, H., 2009. Prediction of manure nitrogen and carbon output from grower-finisher pigs. Anim. Feed Sci. Techn. 151: 97-110.

Williams, B.A., Verstegen, M.W.A., Tamminga, S., 2001. Fermentation in the large intestine of single-stomached animals and its relationship to animal health. *Nutr. Res. Rev.* 14:207–227.

Williams, B.A., Bosch, M.W., Boer, H., Verstegen, M.W.A., Tamminga, S., 2005. An in vitro batch culture method to assess potential fermentability of feed ingredients for monogastric diets. *Anim. Feed Sci. Technol.* 123–124: 445–462.

Williams, P.C., 2001. Variables affecting near-infrared reflectance spectroscopy analysis. In: “Near-Infrared technology in the Agriculture and Food Industries”, 1st ed., Ed by P. Williams and K. Norris. American Association of Cereal Chemists. St. Paul, MN, USA, pp 143-167.

Xu, M., Rinker, M., McLeod, K.R., Harmon, D.L., 2010. *Yucca schidigera* extract decreases in vitro methane production in a variety of forages and diets. *Anim. Feed Sci. Technol.* 159: 18–26.

Yang, Z., Han, L., Fan, X., 2006. Rapidly estimating nutrient contents of fattening pig manure from floor scrapings by near infrared reflectance spectroscopy. *J. Near Infrared Spect.* 14: 261-268.