

CINÉTICA DE PRODUCCIÓN DE GAS Y CARACTERÍSTICAS FERMENTATIVAS *In vitro* DE LA SUSTITUCIÓN DE MELAZA DE CAÑA POR PULPA DE MANGO EN LA ELABORACIÓN DE BLOQUES NUTRICIONALES

KINETICS OF GAS PRODUCTION AND *In vitro* FERMENTATIVE CHARACTERISTICS OF THE SUBSTITUTION OF CANE MOLASSES FOR MANGO PULP IN THE ELABORATION OF NUTRITIONAL BLOCKS

Paulino Sánchez-Santillán¹, Nicolás Torres-Salado¹, Adelaido R. Rojas-García¹, María B. Bottini-Luzardo¹, María Á. Maldonado-Peralta¹, José C. Escobar-España², Iván Reyes-Vázquez³, Daniel Manuel-Luviano⁴, Jerónimo Herrera-Pérez^{1*}

¹Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia No. 2, Universidad Autónoma de Guerrero. Km 197 Carretera Acapulco-Pinotepa Nacional. 41940. Cuajinicuilapa, Guerrero, México (mvzjero@hotmail.com). ²Ganadería. Campus Montecillo. Colegio de Postgraduados. 56230. Montecillo, Estado de México. ³Trouw Nutrition, México, Avenida C No. 1101, Fraccionamiento Central de Carga, San Nicolás de los Garza, 66494. Nuevo León, México. ⁴Licenciatura en Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Autónoma de Guerrero, México.

RESUMEN

Los bloques nutricionales (BN) son una estrategia de suplemento para rumiantes y en su elaboración se incluyen ingredientes alimenticios regionales como el mango (*Mangifera indica* L.). La pulpa de mango (PM) por sus azúcares rápidamente fermentables puede sustituir la melaza de caña en la elaboración de BN. El objetivo de este experimento fue evaluar la cinética de producción de gas *in vitro* y las características fermentativas de la sustitución parcial de melaza de caña de azúcar (*Saccharum officinarum* L.) por PM para elaborar BN. El diseño experimental fue completamente al azar y los tratamientos fueron PM0, PM10, PM20 y PM30 que fue el nivel de sustitución de melaza por PM. En la muestra de cada tratamiento se determinó materia seca (MS), proteína cruda, cenizas, fibra detergente neutro (FDN) y fibra detergente ácido (FDA). Los biodigestores con 0.5 g de muestra de cada tratamiento y 50 mL de medio de cultivo se mantuvieron a 39 °C por 72 h. En los biodigestores se calcularon volumen máximo de gas (V_p), tasa de producción de gas (S), tiempo lag (λ), producción de gases totales y metano (CH_4), ácidos grasos volátiles (AGV), degradación de MS (DEGMS) y degradación de FDN (DEGFDN) a las 72 h. El PM0 produjo V_p de gases totales y mayor DEGMS ($p \leq 0.05$). PM0 y PM10 presentaron mayor S y menor λ ($p \leq 0.05$). No hubo diferencias entre tratamientos ($p > 0.05$) para DEGFDN, CH_4 , AGV. La sustitución parcial de pulpa de mango por melaza de caña de azúcar en bloques nutricionales disminuyó el volumen máximo de gas

ABSTRACT

Nutritional blocks (NB) are a supplement strategy for ruminants, and regional food ingredients such as mango (*Mangifera indica* L.) are included in their preparation. Due to its rapidly fermentable sugars, mango pulp (MP) may be used to substitute sugar cane molasses in the elaboration of NB. The objective of the present experiment was to evaluate the kinetic of gas production *in vitro* and the fermentative characteristics of the partial substitution of sugar cane molasses (*Saccharum officinarum* L.) with MP in the elaboration of NB. The experimental design was completely randomized and the treatments were MP0, MP10, MP20 and MP30, which was the level of substitution of molasses with MP. The variables determined in the sample of each treatment were: dry matter (DM), crude protein, ash, neutral detergent fiber (NDF) and acid detergent fiber (ADF). The biodigesters with 0.5 g of sample from each treatment and 50 mL of culture medium were maintained at 39 °C for 72 h. The variables calculated in the biodigesters were: maximum gas volume (V_p), gas production rate (S), time lag (λ), production of total gases and methane (CH_4), volatile fatty acids (VFA), degradation of dry matter (DEGDM) and of NDF (DEGNDF) at 72 h. The MP0 produced V_p of total gases and higher DEGDM and degradation of NDF (DEGNDF) at 72 h. The MP0 produced V_p of total gases and highest DEGDM ($p \leq 0.05$). MP0 and MP10 presented higher S and lower λ ($p \leq 0.05$). There were no differences among treatments ($p > 0.05$) for DEGNDF, CH_4 and VFA. The partial substitution of mango pulp for sugar cane molasses in nutritional blocks decreased the maximum volume of gas produced, degradation of dry matter, total gases and increased colonization time.

* Autor responsable ♦ Author for correspondence.

Recibido: julio, 2018. Aprobado: mayo, 2019.

Publicado como ARTÍCULO en *Agrociencia* 53: 957-967. 2019.

producido, la degradación de la materia seca, los gases totales y aumentó el tiempo de colonización.

Palabras clave: fermentación, carbohidratos disponibles, degradación, melaza, *Mangifera indica* L.

INTRODUCCIÓN

El uso de bloques nutricionales (BN) es una estrategia para dar suplementos a los rumiantes (Birbe *et al.*, 2006). El BN es sólido y compacto, el consumo por los rumiantes se regula debido a sus ingredientes (Tobía *et al.*, 2003) y sus características físicas facilitan su manejo (Hernández *et al.*, 2014). En la elaboración de los bloques nutricionales se usan ingredientes energéticos, proteicos, minerales, aglutinantes y fibrosos que proporcionan nutrientes para complementar la calidad nutritiva de los forrajes, promover el crecimiento microbiano ruminal, aumentar la digestibilidad, reducir el tiempo de pasaje del forraje en el sistema digestivo (Dean *et al.*, 2003) e incrementar su consumo (Birbe *et al.*, 2006). Las materias primas para elaborarlos son melaza, sales minerales, cal, esquilmos agrícolas (Tobía *et al.*, 2003; Dean *et al.*, 2003; Salamanca, 2010), maíz molido (Dean *et al.*, 2003) y nitrógeno no proteico (Macedo *et al.*, 2006; Pinto *et al.*, 2014).

La melaza es un ingrediente que proporciona carbohidratos fermentables y da consistencia al BN (Tobía *et al.*, 2003; Dean *et al.*, 2003). Pero el uso de melaza en el trópico es costoso y escaso porque es un subproducto agroindustrial que no se produce en el estado de Guerrero, México, lo cual limita su uso en la elaboración de BN (Pinto *et al.*, 2014). No obstante, se pueden usar ingredientes con potencial alimenticio para rumiantes como el heno de leguminosas (Osuna *et al.*, 1996; Vázquez-Mendoza *et al.*, 2012) carnarina, salazón (Araque y Cortes, 1998), pulidura de arroz (Herrera *et al.*, 2001), afrecho de trigo (Tobía *et al.*, 2003), polietilenglicol 4000 (Gasmi-Boubaker, 2006), salvado de trigo, ortofosfato (Macedo *et al.*, 2006), vegetación marina (Castellanos *et al.*, 2010) y mucilago de café (Pinto *et al.*, 2014).

En el 2015, México produjo 1.8 millones t de mango (*Mangifera indica* L.) y el estado de Guerrero produjo 20.1% del total nacional, seguido por Sinaloa (17.0%), Nayarit (14.0%) y Chiapas (12.1%) (SIAP, 2017). Las principales variedades de mango producidas en México son ataulfo, haden, keitt, kent,

Key words: fermentation, available carbohydrates, degradation, molasses, *Mangifera indica* L.

INTRODUCTION

The use of nutritional blocks (NB) is a strategy for giving supplements to ruminants (Birbe *et al.*, 2006). The NB is solid and compact, its consumption by the ruminants is regulated due to its ingredients (Tobía *et al.*, 2003) and its physical characteristics facilitate its management (Hernández *et al.*, 2014). Ingredients for NB are energy, protein, mineral, agglutinant and fiber, which provide nutrients to complement the nutritional quality of the pasture, promote ruminal microbial growth, increase digestibility, reduce the pasture passage time in the digestive system (Dean *et al.*, 2003) and increment its consumption (Birbe *et al.*, 2006). The raw materials for its elaboration are molasses, mineral salts, lime, agricultural residue (Tobía *et al.*, 2003; Dean *et al.*, 2003; Salamanca, 2010), ground maize (Dean *et al.*, 2003) and non-protein nitrogen (Macedo *et al.*, 2006; Pinto *et al.*, 2014). Molasses is an ingredient that provides fermentable carbohydrates and gives consistency to the NB (Tobía *et al.*, 2003; Dean *et al.*, 2003). But, molasses are costly and scarce because it is an agro-industrial byproduct not produced in the state of Guerrero, Mexico, which limits its use for NB (Pinto *et al.*, 2014). However, ingredients with nutritional potential for ruminants can be used, such as legume hay (Osuna *et al.*, 1996; Vázquez-Mendoza *et al.*, 2012), bone meal, salt (Araque and Cortes, 1998), rice bran (Herrera *et al.*, 2001), wheat bran (Tobía *et al.*, 2003), polyethylene glycol 4000 (Gasmi-Boubaker, 2006), wheat germ, orthophosphate (Macedo *et al.*, 2006), seaweed (Castellanos *et al.*, 2010) and coffee mucilage (Pinto *et al.*, 2014).

In 2015, Mexico produced 1.8 million t of mango (*Mangifera indica* L.) and the state of Guerrero produced 20.1% of the national total, followed by Sinaloa (17.0%), Nayarit (14.0%) and Chiapas (12.1%) (SIAP, 2017). The principal varieties of mango produced in Mexico are Ataulfo, Haden, Keitt, Kent, Manila and Tommy Atkins (SAGARPA, 2009). In the state of Guerrero there is overproduction of mango due to its seasonality, which generates waste that contaminates the environment, but its nutritional characteristics permit its use

manila y tommy atkins (SAGARPA, 2009). En el estado de Guerrero hay sobreproducción de mango por la estacionalidad, lo cual genera desechos que contaminan el ambiente, pero sus características nutricionales permiten su uso en la alimentación de rumiantes (Vincent, 2003). La pulpa de mango (PM) (sin semilla y cáscara) contiene: 74 a 87% de humedad, 0.40 a 0.80% de proteínas, 0.03 a 1.0% de lípidos y 15 a 23% de carbohidratos simples, principalmente fructosa, lo que aporta 102 kcal 100 g⁻¹ MS (Wall-Medrano *et al.*, 2015). Además, contiene vitaminas A, C y E, polifenoles, carotenos, potasio, magnesio, hierro, fósforo, calcio, pectinas, ácido cítrico, ácido málico y taninos (Sumaya-Martínez *et al.*, 2012).

En México hay antecedentes de la utilización de residuos de mango en la elaboración de microsilos (Guzmán *et al.*, 2010; Guzmán *et al.*, 2012), pero no del uso de la PM en la alimentación de rumiantes. La técnica *in vitro* permite estimar la degradación de nutrientes como la fibra detergente neutro (FDN) que sirve como un indicador de consumo de la MS digestible y por medio de variables estimar su valor nutritivo (Blummel *et al.*, 2005). Por lo tanto, el objetivo de este experimento fue evaluar la cinética de producción de gas y las características fermentativas *in vitro* de la sustitución parcial de melaza de caña de azúcar por PM en la elaboración de BN, porque la PM por sus azúcares rápidamente fermentables puede sustituir la melaza de caña en la elaboración de BN.

MATERIALES Y MÉTODOS

Localización del estudio

El estudio se realizó en el laboratorio de Nutrición Animal de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia No. 2 de la Universidad Autónoma de Guerrero, ubicado en Cuajinicuilapa, Estado de Guerrero (16° 08" N y 98° 23" O).

Tratamientos

El mango de la variedad ataulfo se obtuvo de productores del Municipio de Cuajinicuilapa, y se recolectó a los 100 d después de la floración. La pulpa se separó de la cáscara y el hueso y se licuó en una licuadora (OSTER®, EUA). Los tratamientos se elaboraron con sustitución parcial la melaza de caña de azúcar por PM (Cuadro 1) para obtener PM0, PM10, PM20 y PM30. Los ingredientes se mezclaron, homogeneizaron y se colocaron en un

in the feeding of ruminants (Vincent, 2003). MP (without seed and peel) contains the following: 74 to 87% moisture, 0.40 to 0.80% proteins, 0.03 to 1.0% lipids and 15 to 23% simple carbohydrates, principally fructose, which supplies 102 kcal 100 g⁻¹ DM (Wall-Medrano *et al.*, 2015). Furthermore, it contains vitamins A, C and E, polyphenols, carotenos, potassium, magnesium, iron, phosphorus, calcium, pectin, citric acid, malic acid and tannins (Sumaya-Martínez *et al.*, 2012).

In Mexico there are antecedents in the utilization of mango residue in the elaboration of microsilages (Guzmán *et al.*, 2010; Guzmán *et al.*, 2012), but not in the use of MP in the feeding of ruminants. The *in vitro* technique permits the estimation of the

Cuadro 1. Composición y bromatología de los bloques nutricionales sustituyendo melaza de caña por pulpa de mango (*Mangifera indica* L.).

Table 1. Composition and bromatology of the nutritional blocks substituting sugar cane molasses with mango pulp (*Mangifera indica* L.).

Ingrediente	PM0	PM10	PM20	PM30
Composición de los bloques nutricionales (%)				
Urea	10	10	10	10
Sal	5	5	5	5
Mezcla mineral	3	3	3	3
Cemento	10	10	10	10
Heno de pasto pangola	5	5	5	5
Pata de coco	20	20	20	20
Mazorca de maíz molida	17	17	17	17
Melaza de caña	30	20	10	0
Pulpa de mango	0	10	20	30
Análisis bromatológico de los bloques nutricionales (%)				
MS	92.74	91.70	91.85	91.89
PC	31.51	35.89	35.19	36.16
Ce	26.33	27.52	26.00	28.79
FDN	21.23	22.27	24.16	26.58
FDA	10.64	10.94	12.50	13.32

PM0: Testigo, 0 % pulpa de mango y 30 % melaza; PM10: 10 % pulpa de mango y 20 % melaza; PM20: 20 % pulpa de mango y 10 % melaza; PM30: 30 % pulpa de mango y 0 % melaza; MS: materia seca; PC: proteína cruda; CE: ceniza; FDN: fibra detergente neutro; FDA: fibra detergente ácido. ♦ MP0: Control, 0% mango pulp and 30% molasses; MP10: 10 % mango pulp and 20 % molasses; MP20: 20 % mango pulp and 10 % molasses; MP30: 30 % mango pulp and 0 % molasses; DM: dry matter; CP: crude protein; CE: ash; NDF: neutral detergent fiber; ADF: acid detergent fiber.

molde de plástico circular (19 cm diámetro y 10 cm de profundidad) para compactarlo. Los BN se secaron 8 d al sol antes de tomar una muestra para su análisis.

Análisis bromatológico

En muestras de los tratamientos (Cuadro 1) se analizó el contenido de materia seca (MS; método 930.15), proteína cruda (PC; método 945.18) y cenizas (Ce; método 942.05), según AOAC (2005). Además, FDN y FDA con la metodología de ANKOM Technology Method (Van Soest *et al.*, 1991).

Medio de cultivo

El medio de cultivo se compuso de dos tercios de solución amortiguador-mineral reducida y un tercio de fluido ruminal fresco. La solución amortiguador-mineral reducida contenía: 150 mL de solución mineral I [6 g K_2HPO_4 (Sigma) en 1000 mL de H_2O destilada], 150 mL de solución mineral II [6 g KH_2PO_4 (Sigma) + 6 g $(NH_4)_2SO_4$ (Merck) + 12 g NaCl (Sigma-Aldrich) + 2.45 g $MgSO_4$ (Sigma) + 1.6 g $CaCl-2H_2O$ (Sigma) en 1000 mL de H_2O destilada], 100 mL de solución al 8% de Na_2CO_3 (Merck), 100 mL de solución reductora [0.1 g L-cisteína (Sigma) + 0.1 g Na_2S-9H_2O (Meyer) + 2 mL NaOH (2N; Meyer) en 100 mL de H_2O destilada] y 2 mL de resazurina a 0.1% (Sigma-Aldrich), según Sánchez-Santillán *et al.* (2015), Hernández-Morales *et al.* (2018) y Torres-Salado *et al.* (2018). El fluido ruminal fresco se obtuvo de un bovino con cánula ruminal que pastoreó en praderas con pasto pangola (*Digitaria decumbens*) y se filtró con una manta de cielo para eliminar las macropartículas de materia orgánica. El bovino se manejó de acuerdo con el reglamento interno de bioética y bienestar animal de la UAGro con fundamento en las normas oficiales NOM-062-ZOO-1999 y NOM-051-ZOO-1995.

Biodigestores

En un vial serológico (120 mL) se agregaron 0.5 g de muestra de cada tratamiento a peso constante y 50 mL de medio de cultivo, bajo flujo continuo de CO_2 , para mantener condiciones de anaerobiosis. Los biodigestores se mantuvieron a 39 °C por 72 h. La producción de gas de los biodigestores (cinco muestras independientes) se midió mediante el desplazamiento del émbolo de una jeringa de vidrio (50 mL; BD Yale, Brasil) a las 0, 2, 4, 6, 9, 12, 24, 36, 48 y 72 h. El volumen de gas producidos (mL) se usó para calcular los parámetros de la cinética de producción de gas con la ecuación:

$$V = V_f \times \{1 + \exp(2 + 4(\lambda - t))\}^{-1}$$

degradation of nutrients such as neutral detergent fiber (NDF), which serves as an indicator of consumption of the digestible DM and by means of variables to estimate their nutritive value (Blummel *et al.*, 2005). Therefore, the objective of the present experiment was to evaluate the kinetic of gas production and the fermentative characteristics *in vitro* of the partial substitution of sugarcane molasses with MP in the elaboration of NB, because due to its rapidly fermentable sugars, MP can substitute cane molasses in the elaboration of NB.

MATERIALS AND METHODS

Location of the study

The study was carried out in the Animal Nutrition laboratory of the Department of Veterinary Medicine and Animal Science No. 2 of the Universidad Autónoma de Guerrero, located in Cuajimicuilapa, state of Guerrero (16° 08' N and 98° 23' W).

Treatments

Mango of the Ataulfo variety was obtained from producers of the municipality of Cuajimicuilapa, and was collected 100 d after flowering. The pulp was separated from the peel and the seed and was liquified in a blender (OSTER, U.S.A.). The treatments were made with partial substitution of the sugar cane molasses with MP (Table 1) to obtain MP0, MP10, MP20 and MP30. The ingredients were mixed, homogenized and placed in a circular plastic mold (19 cm diameter and 10 cm depth) to be compacted. The NB were dried 8 d in the sun prior to taking a sample for analysis.

Bromatological analysis

In samples of the treatments (Table 1) the content of dry matter was analyzed (DM; method 930.15), along with crude protein (CP; method 945.18) and ash (Ce; method 942.05), according to AOAC (2005). In addition, NDF and ADF were analyzed using the methodology of ANKOM Technology Method (Van Soest *et al.*, 1991).

Culture medium

The culture medium was comprised of two thirds of reduced mineral buffer solution and a third of fresh ruminal fluid. The reduced mineral-buffer solution contained the following: 150 mL mineral solution I [6 g K_2HPO_4 (Sigma) in 1000 mL of distilled

donde V es el volumen de gas en el tiempo t , V_f es el volumen máximo en $t = \infty$, S es una constante de velocidad llamada tasa específica ($S = \text{velocidad máxima/volumen máximo}$), y λ es una constante de integración equivalente a un plazo de retraso (Schofield y Pell, 1995).

Producción de gases totales

El volumen de gas producido (mL) *in vitro* se utilizó para calcular los moles de los gases totales generados a las 72 h mediante la ecuación de gases ideales:

$$PV = nRT$$

donde P = presión en atmósferas (atm), R = constante molar de un gas = $0.0821 \text{ L} \cdot \text{atm} / (\text{K} \cdot \text{mol})$, V = Volumen (L), T = Temperatura (K), y n = moles de gas, Posada y Noguera (2005).

Gas metano (CH₄)

La producción de CH₄ (cinco muestras independientes) se midió a las 72 h. Una manguera Taygon® (2.38 mm Ø interno y 45 cm de longitud) con agujas hipodérmicas (20 G × 32 mm) en los extremos se usó para acoplar un biodigestor con un vial trampa lleno de solución NaOH (2N) [80 g de NaOH (Merck) en 1000 mL de H₂O destilada] modificado de la metodología de Stolaroff *et al.* (2008). La producción de CH₄ se tomó como el volumen desplazado (mL) de la solución NaOH (2N), ya que el CO₂ reacciona con el NaOH formando Na₂CO₃ (Prada-Matiz y Cortés-Castillo 2011). Los moles de CH₄ se calcularon mediante la ecuación de gases ideales $PV = nRT$, según Posada y Noguera (2005).

Ácidos grasos volátiles (AGV)

A las 72 h de incubación, se tomó 1 mL del medio contenido en el biodigestor (tres muestras independientes) y se mezcló con ácido metafosfórico (Meyer) al 25% (4:1) en un tubo (2 mL) para microcentrifuga (Neptune, México). Los tubos se centrifugaron $18,800 \times g$ por 10 min y el sobrenadante se colocó en viales para cromatografía (1.5 mL, Perkin Elmer®, EUA). La concentración de AGV se determinó en un cromatógrafo de gases (Perkin Elmer®, modelo Claurus 580, EE.UU.) equipado con detector de ionización de flama y columna capilar (Elite FFAP, Agilent®) de $30 \text{ m} \times 0.25 \text{ mm}$, se usó helio como gas acarreador a una presión constante de 10 psi, H₂ y aire para generar flama con flujo de 40 y 400 mL min⁻¹. Las temperaturas del horno, inyector y columna fueron 80, 240 y 250 °C y se inyectó 1 μL de muestra. Así, se obtuvieron tres picos en un tiempo de retención de 3.7, 4.4 y 5.2 min para los ácidos acético, propiónico y butírico.

H₂O], 150 mL of mineral solution II [6 g KH₂PO₄ (Sigma) + 6 g (NH₄)₂SO₄ (Merck) + 12 g NaCl (Sigma-Aldrich) + 2.45 g MgSO₄ (Sigma) + 1.6 g CaCl₂·2H₂O (Sigma) in 1000 mL of distilled H₂O], 100 mL of 8% solution of Na₂CO₃ (Merck), 100 mL of reducing solution [0.1 g L-cysteine (Sigma) + 0.1 g Na₂S·9H₂O (Meyer) + 2 mL NaOH (2N; Meyer) in 100 mL of distilled H₂O] and 2 mL of resazurin at 0.1% (Sigma-Aldrich), according to Sánchez-Santillán *et al.* (2015), Hernández-Morales *et al.* (2018) and Torres-Salado *et al.* (2018). The fresh ruminal fluid was obtained from a bovine with a ruminal cannula which had grazed in pastures with pangola grass (*Digitaria decumbrens*) and was filtered with gauze to eliminate the macroparticles of organic matter. The bovine was managed according to the internal rules of bioethics and animal welfare of the UAGro based on the official norms NOM-062-ZOO-1999 and NOM-051-ZOO-1995.

Biodigesters

In a serological vial (120 mL), 0.5 g of sample of each treatment were added at constant weight and 50 mL of culture medium, under continuous flow of CO₂, in order to maintain conditions of anaerobiosis. The biodigesters were maintained at 39 °C for 72 h.

Gas production of the biodigesters (five independent samples) was measured by means of the displacement of the plunger of a glass syringe (50 mL; BD Yale®, Brasil) at 0, 2, 4, 6, 9, 12, 24, 36, 48 and 72 h). The gas volume produced (mL) was used to calculate the parameters of the kinetic of gas production with the following equation:

$$V = V_f \times \{1 + \exp(2 + 4(\lambda - t))\}^{-1}$$

where V is the volume of gas in time t , V_f is the maximum volume in $t = \infty$, S is a constant of velocity known as specific rate ($S = \text{maximum velocity} / \text{maximum volume}$), and λ is a constant of integration equivalent to a delay period (Schofield and Pell, 1995).

Production of total gases

The volume of gas produced (mL) *in vitro* was used to calculate the moles of the total gases generated at 72 h using the equation of ideal gases:

$$PV = nRT$$

where P = pressure in atmospheres (atm), R = molar constant of a gas = $0.0821 \text{ L} \cdot \text{atm} / (\text{K} \cdot \text{mol})$, V = Volume (L), T = Temperature (K), and n = moles of gas, according to the methodology of Posadas y Noguera (2005).

Degradación de la materia seca y FDN

El contenido del biodigestor se filtró en bolsas ANKOM® (F57 filter bags) a peso constante (5 muestras independientes) cuando concluyó el periodo de incubación. Las bolsas ANKOM® con el material residual se secaron a 60 °C por 24 h en una estufa (RIOSSA® HCF-41, México). La capacidad de degradación *in vitro* de la MS (DEGMS) se calculó con la fórmula % DEGMS=(g muestra inicial-g muestra final/g muestra inicial)*100 Posada y Noguera (2005). Las bolsas ANKOM® se sellaron por calor y se determinó FDN con la metodología de ANKOM Technology Method® según Van Soest *et al.* (1991). La degradación de la FDN (DEGFDN) se calculó con la fórmula % DEGFDN=(g FDN inicial-g FDN final/g FDN inicial)*100, de acuerdo con Hernández-Morales *et al.* (2018).

Análisis estadístico

El diseño experimental fue completamente al azar con cinco repeticiones por tratamiento. Los datos de la cinética de producción de gas y metano, degradación de la MS, degradación de FDN, así como los AGV, se analizaron con el procedimiento GLM de SAS® (SAS Institute Inc., 2011). Los valores promedio se compararon con la prueba de Tukey ($p \leq 0.05$).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El tratamiento PM0 mostró 81.24 mL g⁻¹ MS de V_f de gas ($p \leq 0.05$; Cuadro 2); en contraste, PM30 produjo el menor V_f (57.88 mL g⁻¹ MS), y ambos tratamientos son diferentes a los demás ($p \leq 0.05$). La S osciló entre 0.02383 y 0.02667, por lo que los tratamientos PM0, PM10 y PM30 no presentaron diferencias ($p > 0.05$). La S presentada por todos los bloques nutricionales indica que la liberación de nutrientes para su fermentación es relativamente lenta. El tiempo Lag (λ), o fase de colonización de los microorganismos a los bloques nutricionales, fue menor en PM0 y PM10 con 5.63 y 5.80 h. Además, la tendencia en λ fue aumentar ($p \leq 0.05$) conforme se incorporó PM a los tratamientos.

Los valores de V_p, S y λ describen la cinética de producción de gas (Schofield y Pell, 1995) con base en el tipo de carbohidratos presentes en los productos a fermentar (Sánchez-Santillán *et al.*, 2015), lo que permite inferir de manera indirecta la digestibilidad de los alimentos (Andrés *et al.*, 2005; Lara *et al.*, 2009), así como los componentes insolubles de

Methane gas (CH₄)

The production of CH₄ (five independent samples) was measured at 72 h. A Taygon® hose (2.38 mm internal Ø and 45 cm length) with hypodermic needles (20 G×32 mm) at the ends was used to couple a biodigester with a trap vial filled with NaOH (2N) solution [80g of NaOH (Merck) in 1000 mL of distilled H₂O] modified from the methodology of Stolaroff *et al.* (2008). The production of CH₄ was taken as the displaced volume (mL) of the NaOH (2N) solution, given that the CO₂ reacts with the NaOH forming Na₂CO₃ (Prada-Matiz and Cortés-Castillo, 2011). The moles of CH₄ were calculated through the equation of ideal gases PV=nRT, according to Posadas y Noguera (2005).

Volatile fatty acids (VFA)

At 72 h of incubation, 1 mL of the medium contained in the biodigester was taken (three independent samples) and was mixed with metaphosphoric acid (Meyer) at 25% (4:1) in a tube (2 mL) for microcentrifuge (Neptune, Mexico). The tubes were centrifuged 18,800 × g for 10 min and the supernatant was placed in vials for chromatography (1.5 mL, Perkin Elmer®, USA). The concentration of VFA was determined in a gas chromatograph (Perkin Elmer®, model Claurus 580, U.S.A.) equipped with a flame ionization detector and capillary column (Elite FFAP, Agilent®) of 30 m × 0.25 mm. Helium was used as gas carrier at a constant pressure of 10 psi, H₂ and air to generate flame with flow of 40 and 400 mL min⁻¹. The temperatures of the oven, injector and columns were 80, 240 and 250 °C and 1 µL of sample was injected. Thus, three peaks were obtained in a retention time of 3.7, 4.4 and 5.2 min for acetic, propionic and butyric acids.

Degradation of the dry matter and NDF

The content of the biodigester was filtered in ANKOM® (F57 filter bags) bags to constant weight (5 independent samples) when the incubation period was concluded. The ANKOM® bags with the residual material were dried at 60 °C for 24 h in an oven (RIOSSA® HCF-41, Mexico). The *in vitro* degradation capacity of the DM (DEGDM) was calculated with the formula % DEGDM=(g initial sample-g final sample/g initial sample)*100. The ANKOM® bags were heat sealed and NDF was determined with the methodology of ANKOM Technology Method® according to Van Soest *et al.* (1991). The degradation of the NDF (DEGNDF) was calculated with the formula % DEGNDF=(g initial NDF-g final NDF/g initial NDF)*100, according to Hernández-Morales *et al.* (2018).

Cuadro 2. Cinética de producción de gas y características fermentativas de bloques nutricionales sustituyendo melaza de caña por pulpa de mango (*Mangifera indica* L.).

Table 2. Kinetic of gas production and fermentative characteristics of nutritional blocks substituting sugar cane molasses with mango pulp (*Mangifera indica* L.).

Tratamiento	PM0	PM10	PM20	PM30	EEM	P
V_f (mL g ⁻¹ MS)	81.24 ^a	74.10 ^b	69.83 ^b	57.88 ^c	1.84	<0.0001
S (h ⁻¹)	0.02383 ^b	0.02417 ^b	0.02667 ^a	0.02550 ^{ab}	0.00032	0.0013
λ (h)	5.63 ^c	5.80 ^c	10.90 ^b	15.89 ^a	0.92	<0.0001
DEGMS (%)	55.89 ^a	50.02 ^b	48.26 ^b	46.47 ^b	0.93	<0.0001
DEGFND (%)	32.71	31.97	25.1	24.74	1.32	0.2900
Gases (mM)	2.64 ^a	2.31 ^b	2.12 ^c	1.50 ^d	0.09	<0.0001
Metano (mM)	0.92	0.91	1.10	0.97	0.05	0.5374

^{abcd}Medias con distinta letra en una hilera son diferentes. ($p \leq 0.05$). \diamond ^{abcd}Means with different letter in a row are different ($p \leq 0.05$).

PM0: Testigo, 0% pulpa de mango y 30 % melaza; PM10: 10 % pulpa de mango y 20% melaza; PM20: 20% pulpa de mango y 10% melaza; PM30: 30% pulpa de mango y 0% melaza; V_p volumen máximo; S, tasa de producción de gas; λ , tiempo lag; DEGMS, Degradación de materia seca a las 72 h de incubación; DEGFND, degradación de FDN a las 72 h de incubación; Gases, gases totales medidos a las 72 h de incubación; Metano, producción a las 72 h de incubación; EEM, error estándar de la media. \diamond MP0: Control, 0% mango pulp and 30% molasses; MP10: 10% mango pulp and 20% molasses; MP20: 20% mango pulp and 10% molasses; MP30: 30% mango pulp and 0 % molasses; V_p maximum volume; S, gas production rate; λ , time lag; DEGDM, degradation of dry matter at 72 h of incubation; DEGFND, degradation of NDF at 72 h of incubation; Gases, total gases measured at 72 h of incubation; Methane, production at 72 h of incubation; SEM, standard error of the mean.

la pared celular y del contenido celular (Schofield y Pell, 1995). El tratamiento PM0 produjo mayor V_f que los demás tratamientos (Cuadro 2) porque tenía más concentración de carbohidratos fermentables (Rivera *et al.*, 2015) ya que la PM contiene de 14.2 a 18.64 °Brix (Gil *et al.*, 1998; Siller-Cepeda *et al.*, 2009; Medina *et al.*, 2010) y la melaza de caña de azúcar tiene 79.3 °Brix (Vega-Baudrit *et al.*, 2007; Vega-Baudrit 2008). Los grados Brix son una medida indirecta de calidad y cantidad de sólidos totales que contiene un alimento (Santiago *et al.*, 1998).

Hay evaluaciones *in vivo* e *in situ* de BN (Rodríguez *et al.*, 2010; Zarah *et al.*, 2014), pero pocos análisis *in vitro* según Gasmi-Boubaker *et al.* (2006), quienes evaluaron *in vitro* BN elaborados con salvado de trigo, melaza y polietilenglicol, y reportaron 62.5 mL de gas g⁻¹ MO con una tasa de fermentación de 0.22 h⁻¹, resultados superiores a los del presente estudio. Lo anterior se debe al tipo de carbohidratos fermentables (Sánchez-Santillán *et al.*, 2015) que contenían los BN evaluados por cada autor.

La sustitución de melaza de caña por PM en los bloques nutricionales (PM10, PM20 y PM30) redujo entre 7.14 y 23.36% ($p \leq 0.05$; Cuadro 2) la degradación DEGMS, comparados con PM0. La degradación de la FDN en los bloques nutricionales evaluados osciló de 24.74 a 32.71%, sin diferencias entre tratamientos ($p > 0.05$).

Statistical analysis

The experimental design was completely randomized with five replications per treatment. The data of the kinetic of gas and methane production, degradation of the DM, degradation of NDF, as well as the VFA, were analyzed with the GLM procedure of SAS® (SAS Institute Inc., 2011). The average values were compared with the Tukey test ($p \leq 0.05$).

RESULTS AND DISCUSSION

The treatment MP0 showed 81.24 mL g⁻¹ DM of V_f of gas ($p \leq 0.05$); Table 2). In contrast, MP30 produced the lowest V_f (57.88 mL g⁻¹ DM), and both treatments are different from the rest ($p \leq 0.05$). The S oscillated between 0.02383 and 0.02667, thus the treatments MP0, MP10 and MP30 did not present differences ($p > 0.05$). The S presented by all of the nutritional blocks indicates that the release of nutrients for their fermentation is relatively slow. The time Lag (λ), or colonization phase of the microorganisms to the nutritional blocks, was lower in MP0 and MP10 with 5.63 and 5.80 h. Furthermore, the tendency in λ was to increase ($p \leq 0.05$) as MP was incorporated to the treatments.

The values of V_p , S and λ describe the kinetic of gas production (Schofield and Pell, 1995) based on the type of carbohydrates present in the products to

Los tratamientos evaluados no mostraron diferencias ($p > 0.05$; Cuadro 2) en el contenido y degradación de la FDN. Sin embargo, la DEGMS fue superior en el MP0 respecto a los otros tratamientos, por lo cual el BN con 30% melaza de caña (PM0) tendría mejor degradabilidad que aquellos donde se incorporó pulpa de mango (PM10, PM20 y PM30). Lo anterior se deduce porque la degradación *in vitro* predice la digestibilidad de la MS (Blummel *et al.*, 2005; Váradyova *et al.*, 2005) y el grado de degradación dependen del tipo y cantidad de FDN (Delgado *et al.*, 2007; Nordheim-Viken y Volden 2009) usada en la elaboración de los bloques nutricionales.

La producción de CH_4 no cambió ($p > 0.05$) entre tratamientos. PM30 produjo 1.50 mM de gases totales ($p \leq 0.05$) y la proporción de fue CH_4 64.7%. En contraste, PM0 generó 2.64 mM de gas total, pero el CH_4 representó sólo 34.8%. La producción de gas total disminuyó ($p \leq 0.05$) conforme aumentó la PM en los bloques nutricionales, mientras que la fracción de CH_4 aumentó respecto a los gases totales producidos (Cuadro 2).

El comportamiento de gases totales y CH_4 de todos los tratamientos son consecuencia de dos factores durante la fermentación: 1) contenido de carbohidratos solubles disponibles (Siller-Cepeda *et al.*, 2008; Vega-Baudrit 2008; Medina *et al.*, 2010) que se fermentan en AGV, CO_2 e H_2 ; 2) fermentación de carbohidratos estructurales que generan ácido acético, CO_2 e H_2 (Johnson *et al.*, 2000). El CO_2 e H_2 son sustratos utilizados con mayor eficiencia por archeas metanogénicas (Carmona *et al.*, 2005) para metabolizar energía y CH_4 que las bacterias acetogénicas, según la estequiometría de la glucosa en rumen (Carmona *et al.*, 2005; Rodríguez *et al.*, 2010; Rodríguez y Fondevila 2011).

La producción de AGV totales no cambió ($p > 0.05$) entre tratamientos (Cuadro 3). En promedio, los tratamientos tuvieron una producción de 16.8, 4.6 y 2.4 mM L^{-1} de ácido acético, propiónico y butírico, por lo que la producción de AGV totales fue en promedio 23.7 mM L^{-1} .

Los bloques nutricionales presentaron una fermentación heterofermentativa (Sánchez-Santillán y Cobos-Peralta, 2016), sin diferencias en la producción y tipo de AGV. El tipo y cantidad de AGV producidos fueron consecuencia de la composición de los bloques nutricionales y su importancia radica en la aportación de energía para los rumiantes (Anrique, 2010).

be fermented (Sánchez-Santillán *et al.*, 2015), which makes it possible to infer indirectly the digestibility of the foods (Andrés *et al.*, 2005; Lara *et al.*, 2009), along with the insoluble components of the cell wall and of the cell content (Schofield and Pell, 1995). The treatment MP0 produced higher V_f than the other treatments (Table 2) because it had a higher concentration of fermentable carbohydrates (Rivera *et al.*, 2015), given that the MP contains from 14.2 to 18.64 °Brix (Gil *et al.*, 1998; Siller-Cepeda *et al.*, 2009; Medina *et al.*, 2010) and the sugar cane molasses has 79.3 °Brix (Vega-Baudrit *et al.*, 2007; Vega-Baudrit 2008). The degrees Brix are an indirect measurement of quality and quantity of total solids contained in a food (Santiago *et al.*, 1998).

There are evaluations *in vivo* and *in situ* of NB (Rodríguez *et al.*, 2010; Zarah *et al.*, 2014), but few analyses *in vitro* according to Gasmi-Boubaker *et al.* (2006), who evaluated *in vitro* NB elaborated with wheat bran, molasses and polyethylene glycol, and reported 62.5 mL of gas g^{-1} MO with a fermentation rate of 0.22 h^{-1} , which is higher than the results of the present study. The above is due to the type of fermentable carbohydrates (Sánchez-Santillán *et al.*, 2015) contained by the NB evaluated by each author. The substitution of molasses by MP in the nutritional blocks (MP10, MP20 and MP30) reduced between 7.14 and 23.36% ($p \leq 0.05$; Table 2) the degradation DEGDM, compared with MP0. The degradation of the NDF in the nutritional blocks evaluated oscillated from 24.74 to 32.71%, without differences among treatments ($p > 0.05$).

The treatments evaluated did not present differences ($p > 0.05$; Table 2) in the content and degradation of the NDF. However, the DEGDM was higher in the MP0 with respect to the other treatments, thus the NB with 30% sugar cane molasses (MP0) would have higher degradability than those where mango pulp was incorporated (MP10, MP20 and MP30). The above is deduced because the degradation *in vitro* predicts the digestibility of the DM (Blummel *et al.*, 2005; Váradyova *et al.*, 2005) and the degree of degradation depends on the type and quantity of NDF (Delgado *et al.*, 2007; Nordheim-Viken and Volden, 2009) used in the elaboration of the nutritional blocks.

The production of CH_4 did not change ($p > 0.05$) among treatments. MP30 produced 1.50 mM of total gases ($p \leq 0.05$) and the proportion was CH_4 64.7%. In contrast, MP0 generated 2.64 mM of

Cuadro 3. Producción *in vitro* de ácidos grasos volátiles (mM L^{-1}) en bloques nutricionales sustituyendo melaza de caña por pulpa de mango (*Mangifera indica* L.).

Table 3. Production *in vitro* of volatile fatty acids (Mm L^{-1}) in nutritional blocks substituting sugar cane molasses with mango pulp (*Mangifera indica* L.).

Tratamiento	PM0	PM10	PM20	PM30	EEM	P
Ácido acético	16.24	14.43	17.85	18.57	0.87	0.3766
Ácido propiónico	4.48	3.95	4.81	5.20	0.23	0.3123
Ácido butírico	2.40	2.04	2.60	2.64	0.13	0.4097
AGV	23.12	20.14	25.25	26.41	1.23	0.3685

Medias con distinta letra en una hilera son diferentes ($p \leq 0.05$). ♦ Means with different letter in a row are different ($p \leq 0.05$).

PM0: Testigo, 0% pulpa de mango y 30% melaza; PM10: 10% pulpa de mango y 20% melaza; PM20: 20% pulpa de mango y 10% melaza; PM30: 30% pulpa de mango y 0% melaza; AGV, a 72 h de incubación; EEM, error estándar de la media. ♦ MP0: Control, 0% mango pulp and 30 % molasses; MP10: 10% mango pulp and 20% molasses; MP20: 20% mango pulp and 10% molasses; MP30: 30% mango pulp and 0% molasses; VFA, at 72 h of incubation; SEM, standard error of the mean.

CONCLUSIONES

La sustitución parcial de pulpa de mango por melaza de caña de azúcar en bloques nutricionales disminuyó el volumen máximo de gas, la degradación de la materia seca, los gases totales y aumentó el tiempo de colonización. Además, no hubo diferencias en la degradación de la fibra detergente neutro, producción de metano y ácidos grasos volátiles. Estos resultados no permiten concluir si es factible la sustitución de melaza por la pulpa de mango en la elaboración de bloques nutricionales.

AGRADECIMIENTOS

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

LITERATURA CITADA

- Andrés S., A. Calleja., S. López., S. Gonzales J., L. Rodríguez P., and J. Giráldez F. 2005. Prediction of gas production kinetic parameters of forages by chemical composition and near infrared reflectance spectroscopy. *Anim. Feed Sci. Technol.* 123-124: 487-499.
- Anrique R. G. 2010. Metabolismo ruminal de los hidratos de carbono. *In: Contreras P., A., y M. Noro.* (eds). *Rumen: Morfología, Trastornos y Modulación de la Actividad Fermentativa*. 3ra Ed. Valdivia, América. pp: 25-36.
- AOAC. Official Methods of Analysis of AOAC International. 2005. 18th Ed., International, Gaithersburg, MD, USA, Official Method.
- Araque C. A., y R. Cortes. 1998. Evaluación del efecto de diferentes niveles de urea en bloques multinutricionales sobre el

total gas, but the CH_4 represented only 34.8%. The production of total gas decreased ($p \leq 0.05$) as the MP increased in the nutritional blocks, whereas the fraction of CH_4 increased with respect to the total gases produced (Table 2).

The behavior of total gases and CH_4 from all of the treatments are a consequence of two factors during fermentation: 1) content of available soluble carbohydrates (Siller-Cepede *et al.*, 2008; Vega-Baudrit, 2008; Medina *et al.*, 2010) that ferment in VFA, CO_2 and H_2 ; 2) fermentation of structural carbohydrates that generate acetic acid, CO_2 and H_2 (Johnson *et al.*, 2000). The CO_2 and H_2 are substrates utilized with greater efficiency by methanogenic archaea (Carmona *et al.*, 2005) to produce energy; (in the known universe energy is not produced; 1st. Law of Thermodynamics) and CH_4 than the acetogenic bacteria, according to the stoichiometry of the glucose in rumen (Carmona *et al.*, 2005; Rodríguez *et al.*, 2010; Rodríguez and Fondevila, 2011).

The production of total VFA did not change ($p \leq 0.05$) among treatments (Table 3). On the average, the treatments had a production of 16.8, 4.6 and 2.4 mM L^{-1} .

The nutritional blocks presented a heterofermentative fermentation (Sánchez-Santillán and Cobos-Peralta, 2016) without differences in the production and type of VFA. The type and amount of VFA produced were a consequence of the composition of the nutritional blocks and their importance lies in the supply of energy for the ruminants (Anrique, 2010).

- consumo de los bloques y ganancia de peso en mautes. Rev. Fac. Agron. LUZ. 15: 180-187.
- Birbe B., P. Herrera, O. Colmenares, y N. Martínez. 2006. El consumo como variable en el uso de bloques multinutricionales. In: Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad del Zulia (ed). X Seminario de Pastos y Forrajes. Maracaibo, Venezuela. pp: 43-61.
- Blummel M., W. Cone J., A. H. Van Gelber A., I. Nshalai, N. N. Umunna, H. P. Makka, and K. Becker. 2005. Prediction of forage intake using *in vitro* gas production methods: comparison of multiphase fermentation kinetics measured in an automated gas test, and combined gas volume and substrate degradability measurements in a manual syringe system. Anim. Feed Sci. Technol. 123-124: 517-526.
- Carmona J. C., M. Bolívar D., y L. A. Giraldo. 2005. El gas metano en la producción ganadera y alternativas para medir sus emisiones y aminorar su impacto a nivel ambiental y productivo. Rev. Col. Cienc. Pecu. 8: 49-63.
- Castellanos R. A. F., F. Cauich H., L. Chel G., y R. Rosado. 2010. Vegetación marina en la elaboración de bloques multinutritivos para la alimentación de rumiantes. Rev. Mex. Cienc. Pecu. 1: 75-83.
- Dean D., S. Miranda, N. Montiel, D. Arrieta, y A. Martínez. 2003. Efecto de la adición de harina de carne en bloques multinutricionales sobre el consumo voluntario y la digestibilidad en ovinos alimentados con henos de baja calidad. Rev. Univ. Zulia. 20: 328-338.
- Delgado D. C., O. La O., y B. Chongo. 2007. Composición bromatológica y degradabilidad ruminal *in situ* de leguminosas tropicales herbáceas con perspectivas de uso en los sistemas productivos ganaderos. Rev. Cub. Cienc. Agríc. 41: 343-346.
- Gasmi-Boubaker A., C. Kayouli C., and A. Buldgen. 2006. Feed blocks as a supplement for goat kids grazing natural Tunisian rangeland during the dry season. Anim. Feed Sci. Technol. 126: 31-41.
- Gil P. M., E. Surgent, and F. Leal. 1998. Efectos de la poda sobre variables reproductivas y de calidad del mango (*Mangifera indica* L.). Bioagro. 10: 18-23.
- Guzmán O., C. Lemus., J. Bugarín, y J. Bonilla. 2010. Ensilado de residuos de mango (*Mangifera indica* L.) para la alimentación animal. Características fermentativas. Rev. Comp. Prod. Porc. 17: 218-224.
- Guzmán O., C. Lemus, S. Martínez, J. Bonilla, y A. Plasencia. 2012. Características químicas del ensilado de residuos de mango (*Mangifera indica* L.) destinado a la alimentación animal. Rev. Cub. Cienc. Agríc. 46: 369-374.
- Hernández M. J., F. Avilés N., y R. Rojo R. 2014. Metodologías y Aplicaciones para la Producción Ganadera del Trópico Seco en el Sur del Estado de México. 1^{ra} ed. Ciudad de México, México. Gernika, S. A. 305 p.
- Hernández-Morales J., P. Sánchez-Santillán, N. Torres-Salado, J. Herrera-Pérez, A. R. Rojas-García, I. Reyes-Vázquez, y M. A. Mendoza-Núñez. 2018. Composición química y degradaciones *in vitro* de vainas y hojas de leguminosas arbóreas del trópico seco de México. Rev. Mex. Cienc. Pec. 9: 105-120.
- Herrera P., R. Barazarte, B. Birbe, O. Colmenares, M. Hernández, y N. Martínez. 2001. Bloques multinutricionales con urea fosfato. Prueba de aceptabilidad en becerros. Rev. Unelz. Vol. especial 18-22. <http://www.saber.ula.ve/revistaunelz/pdfs/18-22.pdf> (Consulta: julio 2017).

CONCLUSIONS

The partial substitution of mango pulp for sugar cane molasses in nutritional blocks decreased the maximum volume of gas, the degradation of dry matter, total gases and increased colonization time. Furthermore, there were no differences in degradation of neutral detergent fiber, production of methane and volatile fatty acids. These results do not make it possible to conclude whether it is feasible to substitute molasses with mango pulp in the elaboration of nutritional blocks.

—End of the English version—



- Johnson D. E., A. Johnson K., M. Ward G., and E. Branine M. 2000. Ruminants and other animals. In: Khalil, M. (ed). Atmospheric Methane. Springer-Verlag, Berlin, Germany. pp: 112-133.
- Lara P. E., C. Canché M., Magaña H., E. Aguilar, y R. Sanginés J. 2009. Producción de gas *in vitro* y cinética de degradación de harina de forraje de morera (*Morus alba*) mezclada con maíz. Rev. Cub. Cienc. Agríc. 43: 273-279.
- Macedo A., Gutiérrez E., y G. Salas. 2006. Efecto de la suplementación con bloques multinutricionales de melaza urea en vacas anéstricas en Carácuaro, Michoacán, México. IRRD. <http://www.lrrd.org/lrrd18/11/mace18156.htm>. (Consulta: julio 2017).
- Medina C., Paredes A., E. Rodríguez M., Moreno M., D. Belén-Camacho, D. García, y C. Ojeda. 2010. Evaluación de dos métodos de extracción de almidón a partir de cotiledones de mango. Rev. Bioagro. 22: 67-74.
- NOM-051-ZOO-1995. Norma Oficial Mexicana. Trato humanitario en la movilización de animales. Servicio Nacional de Sanidad, Inocuidad y Calidad Agroalimentaria.
- NOM-062-ZOO-1999. Norma Oficial Mexicana, Especificaciones técnicas para la producción, cuidado y uso de los animales de laboratorio. Servicio Nacional de Sanidad, Inocuidad y Calidad Agroalimentaria.
- Nordheim-Viken H., and H. Volden. 2009. Effect of maturity stage, nitrogen fertilization and seasonal variation on ruminal degradation characteristics of neutral detergent fibre in timothy (*Phleum pratense* L.). Anim. Feed Sci. Technol. 149: 30-59.
- Osuna B. D., M. Ventura S., y A. Casanova. 1996. Alternativas de suplementación para mejorar la utilización de los forrajes conservados. II. Efecto de diferentes concentraciones de dos fuentes de energía en bloques nutricionales sobre el consumo y ganancia de peso de ovinos en crecimiento. Rev. Univ. Zulia. 13: 191-200.

- Pinto R. R., A. Medina J., J. Medina F., F. Guevara, H. Gómez, A. Ley, y J. Carmona. 2014. Sustitución de melaza por mucilago de café (*Coffea arabica* L.) en bloques nutricionales para rumiantes. *Rev. Arch. Zoot.* 63: 65-71.
- Prada-Matiz A., and C. E. Cortés-Castillo. 2011. Experiencias en la captura de los gases de combustión de la cascarrilla de arroz con soluciones alcalinas. *Orinoquia* 15: 16-30.
- Posada S. L. and R. Noguera R. 2005. *In vitro* Gas Production Technique: A Tool for Evaluation of Ruminant Feeds. *Livest Res Rural Dev.* 17:4.
- Rivera J. E., C. Molina I., G. Donney's., G. Villegas., J. Chara., y R. Barahona. 2015. Dinámica de fermentación y producción de metano en dietas de sistemas silvopastoriles intensivos con *L. leucocephala* y sistemas convencionales orientados a la producción de leche. *IRRD* 27. <http://www.lrrd.org/lrrd27/4/rive27076.html>. (Consulta: enero 2017).
- Rodríguez M. C., E. Aguirre, F. Salvador, O. Ruiz, C. Arzola, O. La O., y C. Villalobos. 2010. Producción de gas, ácidos grasos volátiles y nitrógeno amoniacal *in vitro* con dietas basadas en pasto seco. *Rev. Cub. Cienc. Agríc.* 44: 251-259.
- Rodríguez R., and M. Fondevila. 2011. Effect of saponins from *Enterolobium cyclocarpum* on *in vitro* microbial fermentation of the tropical grass *Pennisetum purpureum*. *J. Anim. Physiol. Anim. Nut.* 96: 762-9.
- SAGARPA. Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación. 2009. Identificación de las necesidades logísticas para la comercialización del sistema producto mango en la región noroeste. México. 156 p. (Consulta: julio 2017).
- Salamanca C. A. 2010. Suplementación de minerales en la producción bovina. *Rev. Electr. Vet.* 11(9). <http://www.redalyc.org/html/636/63615732008/>. (Consulta: febrero 2017).
- Sánchez-Santillán P., M. Meneses-Mayo., L. Miranda-Romero, E. Santellano-Estrada, B., y Alarcón-Zúñiga. 2015. Actividad fibrolítica y producción de gas por *Pleurotus ostreatus-IE8* y *Fomes fomentarius-EUM1* en bagazo de caña. *Rev. MVZ Córdoba.* 20: 4907-4916.
- Sánchez-Santillán P., y M. A. Cobos-Peralta. 2016. Producción *in vitro* de ácidos grasos volátiles de bacterias celulolíticas reactivadas y bacterias ruminales totales en sustratos celulósicos. *Agrociencia.* 50: 565-574.
- Santiago J., M. Mendoza, y F. Borrego. 1998. Evaluación de tomate (*Lycopersicon esculentum*, Mill) en invernadero: criterios fenológicos y fisiológicos. *Agron. Mesoam.* 9: 59-65.
- SAS. 2011. SAS/STAT User's Guide (Version 9.0) Cary NC, USA USA: SAS Inst. Inc.
- Schofield P., and N. Pell A. 1995. Measurement and kinetic analysis of the neutral detergent-soluble carbohydrate fraction of legumes y grasses. *J. Anim. Sci.* 73: 3455-3463.
- SIAP. Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera. http://infosiap.siap.gob.mx/agricola_siap_gb/identidad/index.jsp. (Consulta: julio 2017).
- Siller-Cepeda J., D. Muy-Rangel, M. Baenz-Sañudo, E. Araizalzarde, y A. Irieta-Ojeda. 2009. Calidad poscosecha de cultivares de mango de maduración temprana, intermedia y tardía. *Rev. Fitotec. Méx.* 32: 45-52.
- Stolaroff J. K., W. Keit D., and V. Lowry V. 2008. Carbon dioxide capture from atmospheric air using sodium hydroxide spray. *Environ. Sci. Technol.* 42: 2728-2735.
- Sumaya-Martínez M. T., L. M. Sánchez H., G. Torrez G., y D. García P. 2012. Red de valor del mango y sus desechos con base en las propiedades nutricionales y funcionales. *Quinta Época.* 16: 826-833.
- Tobía C., A- Bustillos, H. Bravo, y D. Urdaneta. 2003. Evaluación de la dureza y el consumo de bloques nutricionales en ovinos. *Gac. Cienc. Vet.* 9: 26-31.
- Torres-Salado N., P. Sánchez-Santillán, A. R. Rojas-García, J. Herrera-Pérez, y J. Hernández-Morales. 2018. Producción de gases efecto invernadero *in vitro* de leguminosas arbóreas del trópico seco mexicano. *Arch. Zoot.* 67: 55-59.
- Van Soest P. J., B. Robertson J., and A. Lewis B. 1991. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. *J. Dairy Sci.* 74: 3583-3597.
- Váradyova Z., M. Baran, and I. Zelanák. 2005. Comparison of two *in vitro* fermentation gas production methods using both rumen fluid and fecal inoculums from sheep. *Anim. Feed Sci. Technol.* 123-124: 81-94.
- Vázquez-Mendoza P., O. A. Castelan-Ortega, A. García-Martínez, y F. Avilés. 2012. Uso de bloques nutricionales como complemento para ovinos en el trópico seco del altiplano central de México. *Trop. Subtrop. Agroecos.* 15: 87-96.
- Vega-Baudrit J., K. Delgado-Montero, M. R. Sibaja-Ballester, P. Alvarado-Aguilar, y S. Barrientos-Ramírez. 2008. Empleo de melaza de caña de azúcar para la obtención y caracterización de poliuretano potencialmente biodegradables. *Iberoam. Polím.* 9: 408-421.
- Vega-Baudrit J., K. Delgado-Montero, M. R. Sibaja-Ballester, y P. Alvarado-Aguilar. 2007. Uso alternativo de la melaza de caña de azúcar residual para la síntesis de espumas rígidas de poliuretano (ERP) de uso industrial. *Tecnol. Cienc. Educ.* 22: 101-107.
- Vinent D. N. 2003. Estudio de la composición bromatológica del ensilaje de mango en miel. *Rev. Agric. Org.* 1: 8-9.
- Wall-Medrano A., F. J. Olivas-Aguirre, G. R. Velderrain-Rodríguez, A. Gonzales-Aguilar, L. A. de la Rosa, J. A. López-Días, y Álvarez-Parrilla E. 2015. El mango: aspectos agroindustriales, valor nutricional/funcional y efectos en la salud. *Nut. Hosp.* 31: 67-75.
- Zarah A., I. Mohammed, and F. Abbator. 2014. Rumen degradation characteristics of multinutrients blocks in semi-arid region of Nigeria. *Anim. Prod.* 16: 25-30.

