

Evaluación del perfil de nutrientes de bagazo de agave como alternativa de alimento para rumiantes*

Nutrient profile evaluation of agave bagasse as alternative feedstuffs for ruminants

Lucia Delgadillo Ruíz¹, Rómulo Bañuelos Valenzuela¹, Edgar León Esparza Ibarra², Héctor Gutiérrez Bañuelos¹, Francisco Javier Cabral Arellano² y Alberto Muro Reyes^{1§}

¹Universidad Autónoma de Zacatecas-Unidad de Veterinaria, Medicina y Zootecnia. Zacatecas, México. C. P. 98500, Tel: (01) 47 89 85 12 55. (delgadillo Lucia@gmail.com; romulob@hotmail.com; gtzbahector@hotmail.com). ²Unidad Académica y de Biología Experimental. (lesparza@cantera.reduaz.mx; fcabral@cantera.reduaz.mx).

[§]Autor para correspondencia: amurey@hotmail.com.

Resumen

El objetivo de este trabajo fue evaluar el perfil *in vitro* de nutrientes de bagazo de *Agave salmiana* (AS) y *Agave weberi celsa* (AWC) como alternativa para la nutrición de los rumiantes. El bagazo se recogió en Jalpa, Zacatecas durante el año 2010. A partir de las muestras recogidas, se evaluó: materia seca (MS), cenizas, fibra cruda (FC), extracto etéreo (EE), proteína cruda (PC), carbono orgánico total (TOC), detergente neutro de fibra (DNF), y azúcares reductores totales (ART). Macro y micro-minerales se determinaron por espectroscopia de absorción atómica. Además, se utilizó una técnica de producción de gas *in vitro* para evaluar la cinética de fermentación, y después de 48 h de incubación de las muestras se utilizaron para cuantificar la producción de AGV. La proteína cruda (%) (2.25 vs 2.73), EE (%) (0.274 vs 0.272), CF (%) (22.15 vs 16.58) y cenizas (%) (2.14 vs 1.81) no fueron diferentes estadísticamente ($p > 0.05$) entre AS y tratamiento AWC. Los valores de DNF (% MS) fueron estadísticamente diferentes ($p < 0.05$) entre el AS (45.45) y los tratamientos AWC (52.95). No se observaron diferencias en AGV entre bagazo de agave y de frijol. Los valores de calcio (%) promedio de 3.46 y 1.95 para AS y AWC, respectivamente. Se concluye que, el bagazo de agave representa una alternativa viable para la alimentación de rumiantes, especialmente en la estación seca.

Abstract

The aim of this project was to evaluate the *in vitro* nutrient profile of *Agave salmiana* (AS) and *Agave weberi celsa* (AWC) bagasse as alternative feedstuffs for ruminant nutrition. The bagasse was collected in Jalpa, Zacatecas during 2010. From collected samples, dry matter (DM), ash, crude fiber (CF), ether extract (EE), crude protein (CP), total organic carbon (TOC), neutral detergent fiber (NDF), and total reducing sugars (TRS) were evaluated. Macro- and micro-minerals were determined by atomic absorption spectroscopy. Also, it was used an *in vitro* gas production technique to evaluate fermentation kinetic, and after 48h of incubation samples were used to quantified VFA production. Crude protein (%) (2.25 vs 2.73), EE (%) (0.274 vs 0.272), CF (%) (22.15 vs 16.58) and ash (%) (2.14 vs 1.81) were not different statistically ($p > 0.05$) between AS and AWC treatment. Values for NDF (% DM) were statistically different ($p < 0.05$) between AS (45.45) and AWC (52.95) treatments. No differences on VFA's were observed among agave bagasse and bean straw. Calcium (%) values averaged 3.46 and 1.95 for AS and AWC-treatments, respectively. It is concluded that Agave bagasse can represents an alternative feedstuffs for ruminants, especially at dry season.

* Recibido: octubre de 2014
Aceptado: febrero de 2015

Palabras clave: *Agave salmiana*, *Agave weberi cela*, perfil de nutrientes.

Recientemente, los piensos para rumiantes se han incrementado los costos y la disminución de la disponibilidad debido a los efectos de calentamiento global, aumento de la producción de biocombustibles, y las estaciones secas largas. Las plantas que utilizan el crasuláceo metabolismo ácido (CAM) tienen bajos requerimientos de agua y son productivos en las regiones semiáridas porque asimilan de carbono en la noche, lo que disminuye el gradiente de difusión de agua de las hojas y la mejora de la eficiencia del uso del agua (Nobel, 1994). El género *Agave* se compone exclusivamente de plantas CAM obligados, que tienen un creciente interés para muchos países para cultivar e industrializar. El bagazo de agave se ha producido en gran medida por las industrias de alcohol de bebidas mexicanas, específicamente para la producción de tequila y mezcal. El bagazo de agave es la fibra residual que queda después de que las cabezas de agave se han cocido y son trituradas, molidas y el agua dulce es extraída.

Representa aproximadamente 40% del peso total de la agave molida sobre una base de peso en húmedo (Cedeño, 1995; Iñiguez-Covarrubias *et al.*, 2001). Este subproducto es típicamente un abono y se vuelve a aplicar a los campos de agave, devolviendo los nutrientes, además contribuye a la acidificación del suelo. A su vez, el bagazo de agave se ha relacionado con problemas de salud pública. Han surgido estrategias alternativas tendientes a disminuir la contaminación del bagazo y evaluar su nutriente útil. Por otra parte, más información es necesaria para el uso adecuado de este ingrediente. Por estas razones, el objetivo principal de esta investigación fue evaluar el perfil nutricional de *Agave salmiana* y *Agave weberi cela* como alimento alternativo para los rumiantes.

Diseño experimental: muestras de bagazo de *Agave salmiana* y *Agave weberi cela* se obtuvieron de las fábricas de mezcal en el estado de Zacatecas en México, durante el año 2010. Las muestras de bagazo se utilizaron para el análisis bromatológico, composición mineral y, producción cinética de gas *in vitro*, a partir de la paja de frijol como grupo de control. Todos los análisis de laboratorio se efectuaron por triplicado.

Procedimientos analíticos: la composición bromatológica aprueba incluyó, materia seca, extracto etéreo, proteína cruda, fibra cruda, y los porcentajes de ceniza del bagazo

Keywords: *Agave salmiana*, *Agave weberi cela*, nutrient profile.

Recently, feedstuffs for ruminants have been increasing costs and decreasing availability due to global warming effects, raising production of biofuels, and long dry seasons. Plants that use the Crassulacean Acid Metabolism (CAM) pathway have low water requirements and are productive in semiarid regions because they assimilate carbon at night, thereby decreasing the diffusive gradient of water out of leaves and improving water use efficiency (Nobel, 1994). The *Agave* genus is composed exclusively of obligate CAM plants, which have an increasing interest to many countries for cultivate and industrialize. *Agave* bagasse have been produced greatly by Mexican alcohol-beverage industries, specifically for production of tequila and mezcal beverages. *Agave* bagasse is the residual fiber remaining after cooked *agave* heads are shredded, milled and the sugars water extracted.

It represents about 40% of the total weight of the milled *agave* on a wet weight basis (Cedeño, 1995; Iñiguez-Covarrubias *et al.*, 2001). This by-product is typically composted and reapplied to *Agave* fields, returning nutrients but also contributing to acidification of the soil. As well, *Agave* bagasse has been related to public health problems. Alternative strategies tending to decrease bagasse pollution and to evaluate its nutrient useful arise. Moreover, added information becomes necessary to appropriate uses of this ingredient. For that reasons the main objective of this investigation was to evaluate the nutrient profile of *Agave salmiana* and *Agave weberi cela* as alternative feedstuff for ruminants.

Experimental design: samples of *Agave salmiana* and *Agave weberi cela* bagasse were collected from mezcal factories at Zacatecas state in Mexico during 2010. Bagasse samples were used for bromatological analysis, mineral composition and, *in vitro* gas production kinetics, using bean straw as a control group. All lab analysis was effectuated in triplicate.

Analytical procedures: bromatological composition tested included, dry matter, ether extract, crude protein, crude fiber, and ash percentages on *Agave* bagasse (AOAC, 1990). Total organic carbon (TOC) was obtained by the following equation: $TOC = (100 - \% \text{ ash}) / 1.8$. Neutral detergent fiber was obtained by Van Soest *et al.* (1991) technique. Total reducer sugars were obtained using Lane-Eynon technique. Also, pH was measured using preparations of *Agave* extracts in water on a proportion of 1:5 (weight/volume). Moreover, mineral composition evaluated included: total nitrogen, calcium,

de agave (AOAC, 1990). El carbono orgánico total (TOC) se obtuvo mediante la siguiente ecuación: $TOC = (100 - \% \text{ de cenizas}) / 1.8$, fibra detergente neutro, obtenida por la técnica de Van Soest *et al.*, (1991). El total de los azúcares reductores se obtuvieron utilizando la técnica de Lane-Eynon. Además, el pH se midió utilizando preparaciones de extractos de agave en agua en una proporción de 1:5 (peso/volumen). Aunado a esto, la evaluación de componentes mineral fueron: nitrógeno total, calcio, cobre, hierro, magnesio, manganesium, zinc, azufre y potasio fueron contabilizadas por espectroscopia de absorción atómica; y el fósforo por espectrofotometría visible. Finalmente, la degradabilidad cinética se evaluó usando la técnica *in vitro* de producción de gas en descrito por Menke y Steingass (1988), evaluando durante 48 h, leyendo la presión cada 5 min, utilizando el kit de producción de gas base de Ankom® RFS. Los ácidos grasos volátiles (AGV) concentrados se obtuvieron a las 24 horas de incubación por cromatografía de gases.

Análisis estadístico: PROC MIXED de SAS se utilizó para evaluar las diferencias estadísticas y Tukey se utilizó como una prueba de potencia ($p < 0.05$) (SAS, 1991)

El perfil bromatológico se describe en la Cuadro 1, Ortiz-Tovar *et al.* (2007) reportaron valores de bagazo de agave promediando 5.02, 58.72, 54.14, 19.14, 34.99 y 4.58% de PC, DNF, FDA, lignina, celulosa, y hemicelulosa, respectivamente. Resultados de proteína cruda (~ 2.5%) reportados en este estudio mostraron que este nutriente no es suficiente para maximizar el metabolismo microbiano del rumen, los niveles óptimos se han estimado entre 7 y 8%. Sin embargo, la fermentación de estado sólido al agregar urea se ha propuesto para aumentar la proteína cruda a base de piensos que contienen cantidades bajas. El bagazo de *Agave salmiana* ha sido reportado para contener 47, 13 y 10% de celulosa, hemicelulosa y lignina (García-Reyes y Rangel-Mendez, 2009). Paredes-Ibarra *et al.* (2007) reportó un incremento en el consumo de materia seca en corderos alimentados con una relación total mezclada que incluyó bagazo de agave. Además, Iñiguez-Covarrubias *et al.* (2001) concluyó que, el bagacillo de agave podría tener el mismo valor económico como rastrojo el maíz, con la ventaja de que el bagacillo está disponible todo el año y el rastrojo de maíz sólo después de la cosecha de maíz.

copper, iron, magnesium, manganese, zinc, sulfur and potassium were accounted by atomic absorption spectroscopy; and phosphorus by visible spectrophotometry. Finally, kinetic degradability was evaluated using the *in vitro* gas production technique described by Menke and Steingass (1988), testing by 48 h, reading pressured each 5 min using Ankom® RFS gas production base kit. Volatile fatty acid (VFA) concentrations were obtained at 24h of incubation by gas chromatography.

Statistical analysis: PROC MIXED of SAS was used to assess statistical differences and Tukey used as a power test ($p < 0.05$) (SAS, 1991).

Bromatological profile was described at Table 1. Ortiz-Tovar *et al.* (2007) reported values of Agave bagasse averaging 5.02, 58.72, 54.14, 19.14, 34.99 and 4.58% of CP, NDF, ADF, lignin, cellulose, and hemicellulose, respectively. Crude protein results (~2.5%) reported in this trial showed that this nutrient is not enough to maximize rumen microbial metabolism, which optimal levels have been estimated between 7 to 8%. However, solid state fermentation adding urea has been proposed to increase crude protein from feedstuffs containing low amounts. *Agave salmiana* bagasse has been reported to contain 47, 13 and 10% of cellulose, hemicellulose and lignin (García-Reyes and Rangel-Mendez, 2009). Paredes-Ibarra *et al.* (2007) reported an increment on dry matter intake in lambs fed with a total mixed ratio that included Agave bagasse. Also, Iñiguez-Covarrubias *et al.* (2001) concluded that agave bagasse pith could have the same economic value as corn stubble, with the advantage that agave bagasse pith is available all year and corn stubble only after corn harvesting.

Macro mineral evaluations showed that Agave bagasse can represent a natural source of Calcium. Agave plants are perennial evergreen xerophytes containing calcium oxalate crystals at the mesophyll (Blunden *et al.*, 1973). Chávez-Guerrero *et al.* (2010) concluded that Agave salmiana bagasse is an important source of calcium compounds after its incineration. Calcium requirements of bovines have been established between 0.18 and 1.04%, while sheep requirements are between 0.21 and 0.51% (Maynard *et al.*, 1981). At dry seasons requirements of calcium for ruminants can be covered by Agave bagasse. Iron found at the bagasse analysis can supply ruminant requirements which have been estimated between 40 and 50 ppm for sheep and cattle (NRC, 2007).

**Cuadro 1. Perfil bromatológico de *Agave salmiana* y *Agave webery cela*.
Table 1. Bromatological profile of *Agave salmiana* and *Agave webery cela*.**

Item	<i>Agave salmiana</i>	<i>Agave webery cela</i>	SEM	<i>p</i> =
Dry matter (%)	28.37	25.80	2.48	0.33
Ash (%)	2.14	1.81	0.22	0.17
Crude fiber (%)	22.15	16.58	2.86	0.09
Ether extract (%)	0.274	0.272	0.08	0.98
Crude protein (%)	2.25	2.73	0.41	0.28
NFE (%)	1.56	4.41		
NDF (%)	45.45a	52.95b	0.10	<0.01
TOC (%)	54.37	54.55	0.12	0.17
ART (%)	3.1a	1.47b	0.13	<0.01
pH	4.5	4.3	--	--

^{ab} Rows within unlike superscript differs *p*<0.05.

Las evaluaciones macro-minerales mostraron que, el bagazo de agave puede representar una fuente natural de calcio. Las plantas de agave son de hoja perenne xerófitas que contienen cristales de oxalato de calcio en el mesófilo (Blunden *et al.*, 1973). Chávez-Guerrero *et al.* (2010) llegó a la conclusión de que el bagazo de *Agave salmiana* es una fuente importante de compuestos de calcio después de su incineración. Los requerimientos de calcio de los bovinos se han establecido entre 0.18 y 1.04%, mientras que los requerimientos de ovejas son entre 0.21 y 0.51% (Maynard *et al.*, 1981). En las estaciones secas, los requerimientos de calcio para los rumiantes pueden ser cubiertos por el bagazo de agave. El hierro encontrado en el análisis del bagazo puede suministrar requisitos de rumiantes que han sido estimadas entre 40 y 50 ppm para las ovejas y el ganado (NRC, 2007).

Ortiz-Tovar *et al.* (2007) obtuvieron (% mol) a partir del bagazo de agave después de la técnica de producción de gas *in vitro* durante (24 h), 64, 29, 7 y 2.2 para el acetato, propionato, butirato y acetato: Relación de propionato, respectivamente. Infortunadamente, esos autores no informaron qué clase de aga utilizaron. Nuestros resultados se expresan como mmol, que puede explicar las diferencias entre nuestros datos y los datos de AGV. La paja de frijol menudo se utiliza como alimento en la estación seca, y no se observaron diferencias estadísticamente significativas (*p*> 0.05) en AGV entre bagazo y la paja.

La producción de gas cinético del bagazo de agave y la paja del frijol se representa en la Figura 1. Se observaron diferencias en el gas de volumen (ml) correspondiente a completar la digestión del sustrato, entre *Agave salmiana* y la paja de frijol (69 vs 68.5) en comparación con *Agave weberi cela* (35.5). La tasa de degradación (min) fue mayor en la paja de frijol (606) comparando con *Agave salmiana* (297) y *A. weberi cela* (442).

Cuadro 2. Composición mineral en subproductos de *Agave salmiana* y *Agave webery cela*.

Table 2. Mineral composition of *Agave salmiana* and *Agave webery cela* byproducts.

Minerals	<i>A. salmiana</i>	<i>A. webery cela</i>
Total nitrogen (%)	0.54	0.73
Phosphorus (%)	0.03	0.02
Potassium (%)	0.43	0.08
Calcium (%)	3.46	1.95
Magnesium (%)	0.12	0.08
Sulfur (%)	0.21	0.53
Iron, ppm	79.1	485
Zinc, ppm	38.5	25.9
Manganese, ppm	8.16	7.81
Copper, ppm	1.89	5.17

Ortiz-Tovar *et al.* (2007) obtained (% mol) from Agave bagasse after the *in vitro* gas production technique during (24 h), 64, 29, 7 and a 2.2 for acetate, propionate, butyrate and acetate:propionate ratio respectively. Unfortunately, those authors did not report what kind of Agave was used. Our results are expressed as mmol, which can explain differences between our and reported VFA data. Bean straw is often used as feedstuffs at the dry season, and no statistical differences (*p*> 0.05) were observed on VFA among bagasse and straw.

Kinetic gas production of Agave bagasse and bean straw is represented in Figure 1. Differences in volume gas (ml) corresponding to complete substrate digestion were observed, between *Agave salmiana* and bean straw (69 vs 68.5) compared with *Agave weberi cela* (35.5). Degradation rate (min) was higher on bean straw (606) comparing with *Agave salmiana* (297) and *A. webery cela* (442).

**Cuadro 3. Producción de ácidos grasos volátiles (mmol) en bagazo y paja de frijol de *Agave salmiana* and *Agave weberly cela*.
Table 3. Volatile fatty acid production (mmol) of *Agave salmiana* and *Agave weberly cela* bagasse, and bean straw.**

Item	<i>A. salmiana</i>	<i>A. weberly Cela</i>	Bean straw	SEM	<i>p</i> =
Acetic	35.73	30.14	47.86	5.41	0.15
Propionic	10.99	7.00	9.36	2.13	0.36
Butyric	7.79	6.30	10.18	3.23	0.58
Total VFA	54.51	43.43	67.40	8.92	0.22
C2:C3	4.41	5.59	6.52	0.78	0.21

Conclusiones

Los resultados indican propiedades nutricionales específicas del bagazo de *Agave salmiana* y *Agave weberly cela*. Tanto los DNF como los macro-minerales obtenidos muestran que estos subproductos se pueden utilizar sobre todo en épocas de sequía, donde se presenta una baja disponibilidad de piensos. También en la degradabilidad *in vitro* y la energía producida (AGV) permite pensar que estos bagazos tienen el potencial para llevar a cabo los requisitos de mantenimiento para rumiantes.

Literatura citada

- AOAC (Association of Official Analytical Chemists). 1995. Official methods of analysis. 16th Edition. Arlington, VA.
- Blunden, G. and Yi, Y. and Jewers, K. 1973. Comparative leaf anatomy of *Agave*, *Beeschorneria*, *Doryanthes*, and *Furcraea* species (Agavaceae-Agaveae). Bot. J. Linnean Soc. 66:157-179.
- Cedeno, M. C. 1995. Tequila production. Critical Rev. Biotechnol. 15:1-11.
- Chávez-Guerrero, L.; Flores, J. and Kharissov, B. I. 2010. Recycling of ash from mezcal industry: a renewable source of lime. Chemosphere. 81(5):633-638.
- García-Reyes, B. R. and Rangel-Mendez, J. R. 2009. Contribution of agro-waste material main components (hemicelluloses, cellulose, and lignin) to the removal of chromium (III) from aqueous solution. J. Chem. Tech. Biotech. 84:1533-1538.
- Iniguez-Covarrubias, G.; Lange, S. E. and Rowell, R. M. 2001. Utilization of byproducts from the tequila industry: part 1: agave bagasse as a raw material for animal feeding and fiberboard production. Biores. Tehcnol. 77:25-32.
- Maynard, L. A.; Loosli, J. K.; Hintz, H. F. and Warner, R. G. 1981. Nutrición animal. 7^a (Ed.). McGraw-Hill. 640 p.
- Menke, K. H. and Steingass, H. 1988. Estimation of the energetic feed value obtained from chemical analysis and *in vitro* gas production using rumen fluid. J. Anim. Res. Dev. 28:7.
- Nobel, P. S. 1994. Remarkable Agaves and Cacti. Oxford University Press, Oxford.
- NRC (Nutrient Requirements of Beef Cattle). 2007. 7th. Ed. NRC- NAP- Washington.

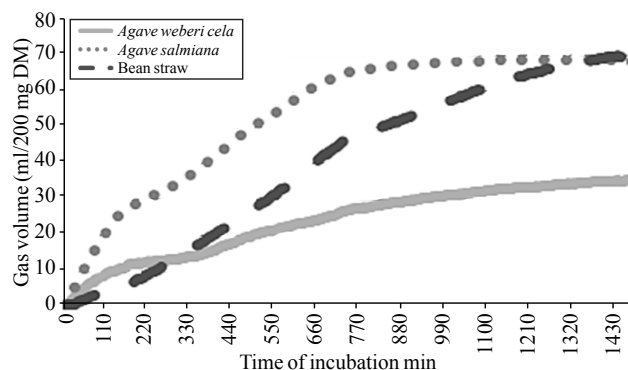


Figura 1. Degradabilidad de bagazo de agave en el sistema *in vitro* de producción de gas.

Figure 1. Degradability of agave bagasses by *in vitro* gas production system.

Conclusions

Results indicate specific nutritional properties of *Agave salmiana* and *A. weberly cela* bagasse. Both NDF and macrominerals obtained, shown that these byproducts can be used especially at dry seasons, where low feedstuff availability is presented. Also *in vitro* degradability and energy produced (VFA) allows thinking that these bagasse have the potential to accomplish maintenance requirements for ruminants.

End of the English version



- Ortiz-Tovar, G.; López-Miranda, J.; Cerrillo-Soto, M. A.; Juárez-Reyes, A.; Favela-Torres, E. and Soto-Cruz, O. 2007. Effect of solid substrate fermentation on the nutritional quality of agro-industrial residues. INCI. 32(5):339-343.
- Paredes-Ibarra, F. J.; Orozco-Hernández, J. R.; Verdin-Sánchez, H.; Montañez-Valdez, O. D.; Alvarado-Loza, E. and Fuentes-Hernández, V. O. 2009. Effect of alkali treatment of agave azul tequilana bagasse on the pelibuey lamb intake and apparent digestibility. Res. J. Biol. Sci. 4(11):1132-1134.
- 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.