

Veterinaria México

Volumen 35
Volume

Número 3
Number

Julio-Septiembre 2004
July-September

Artículo:

Cambios en la capacidad tampón de dietas con 27 o 37% de FDN durante su digestión ruminal in vitro

Derechos reservados, Copyright © 2004:
Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, UNAM

Otras secciones de
este sitio:

- 👉 Índice de este número
- 👉 Más revistas
- 👉 Búsqueda

*Others sections in
this web site:*

- 👉 *Contents of this number*
- 👉 *More journals*
- 👉 *Search*



Medigraphic.com

Cambios en la capacidad tampón de dietas con 27% o 37% de FDN durante su digestión ruminal *in vitro*

Changes in the buffering capacity of diets with 27% or 37% NDF during *in vitro* ruminal digestion

Luis Alberto Miranda Romero*
Juan Manuel Pinos-Rodríguez**
Germán David Mendoza Martínez***
Ricardo Bárcena Gama***
Sergio Segundo González Muñoz***
María Esther Ortega Cerilla***

Abstract

Changes in the buffering capacity of two diets differing in neutral detergent fiber level (NDF, 27% and 37%) were evaluated during *in vitro* digestion as well as for rumination time induced by each diet. Buffering capacity (meq HCl/g of DM/pH) was measured in complete diets and in the *in vitro* digestion residues after 3, 6, 9, 12, 24 and 48 hours. Rumination time was evaluated in six Holstein heifers (300 $\pm$ 17 kg BW). The diet containing 37% NDF had a higher ($P < 0.05$) buffering capacity (204 meq HCl/g of DM/pH) than the diet containing 27% NDF (147 meq HCl/g of DM/pH) before incubation and after three (699 *vs.* 458) and six (639 *vs.* 416) hours of incubation. Rumination time was longer ($P < 0.05$) in heifers fed with the diet containing 37% NDF (210 min/12 h) than with the diet containing 27% NDF (161 min/12 h). Dietary NDF level has two effects on buffering capacity; its intrinsic buffering properties during the first hours of digestion and an indirect effect by stimulating rumination.

Key words: BUFFERING CAPACITY, DAIRY CATTLE, NEUTRAL DETERGENT FIBER, RUMINAL pH, RUMINATION.

Resumen

Se determinó la capacidad tampón (CT) de dos dietas con distinto nivel de fibra detergente neutro (FDN; 27% y 37%) durante su digestión *in vitro* y el tiempo de rumia inducido por las dietas. La CT (meq de HCl/g de MS/pH) se midió en las dietas completas y en los residuos de su digestión *in vitro* a las 3, 6, 9, 12, 24 y 48 h, y el tiempo de rumia se estimó en seis vaquillas Holstein (300 $\pm$ 17 kg). La dieta con 37% de FDN mostró mayor CT (204 meq de HCl/g de MS/pH; $P < 0.05$) que la de 27% de FDN (147 meq de HCl/g de MS/pH). Esta diferencia se mantuvo en los residuos de la digestión de las dietas durante las tres (699 *vs.* 458) y seis (639 *vs.* 416) horas de incubación. El tiempo de rumia fue mayor ($P < 0.05$) en las vaquillas alimentadas con la dieta que contenía 37% de FDN (210 min/12 h) que en la contenía 27% de FDN (161 min/12 h). El nivel de FDN dietario tiene dos efectos en la CT; el primero por su CT intrínseca durante las primeras horas de la digestión, y el segundo indirecto por el estímulo de la rumia.

Palabras clave: CAPACIDAD TAMPÓN, GANADO LECHERO, FIBRA DETERGENTE NEUTRO, pH RUMINAL, RUMIA.

Recibido para su publicación el 19 de marzo de 2003 y aceptado el 20 de agosto de 2003.

*Posgrado en Producción Animal, Departamento de Zootecnia, Universidad Autónoma Chapingo, Carretera México-Texcoco, Km 38.5, Chapingo, Estado de México, 56230, México, E-mail: lmiranda@taurus1.chapingo.mx

**Instituto de Investigación de Zonas Desérticas, Universidad Autónoma de San Luis Potosí, Altair 200, Fraccionamiento del Llano, 78377, San Luis Potosí, México, Tel: (52 + 444) 8222130 y Fax: (52 + 444) 8222718, E-mail: jpinos@uaslp.com

***Especialidad de Ganadería, Colegio de Postgraduados en Ciencias Agrícolas, Montecillo, Estado de México, 56230, México.

Introduction

The risk to induce ruminal acidosis caused by high quantities of energetic concentrates used in diets is a problem in intensive milk production systems. This condition can lead to great losses for the producers, as their animals reduce both food intake and milk production. With the purpose of reducing the risk of acidosis in animals, producers include mineral buffer substances in the diets, which represents a big cost.¹ Among the natural mechanisms to regulate ruminal pH, outstands the continuous flow of buffer substances contained in the saliva.² Rumination time and the quantity of saliva produced by the animal depend on factors such as the proportion, as well as the physical and chemical characteristics of the neutral detergent fiber (NDF) consumed and the size of the particle.²⁻⁵ The diet can play an important role in the regulation of ruminal pH, as dietary ingredients have particular buffering capacities. It has been postulated that the buffering capacity of the ingredients and the nutrients that conform a diet is additive.^{6,7} However, the behavior of the buffering capacity when the ingredients of a diet are mixed and during their digestion is unknown. It is possible that the buffering capacity of dietary residues is modified⁷ by digestion, as diets have variable proportions of fractions of fast, intermediate and low degradation.⁸ The NDF is one of the ingredients of milk herd diets, representing between 27% and 37% of the diet⁹ and it can strongly influence not only the digestion and rumination time, but also the buffering capacity of the diets and its residues from digestion. Therefore, two experiments were conducted in this research: the first one with the objective of determining the buffering capacity of two rations with different proportions of NDF (27% and 37%) during their *in vitro* digestion, and the second one in order to estimate rumination time in heifers fed with these diets.

Material and methods

Two diets with different proportions of NDF (27% and 37%) and with the same ingredients⁹ were elaborated for high and low milk production cows (Table 1). The mixture of the ingredients, except for the alfalfa hay, was designated as supplements. The diets were used in two independent experiments: one of them to assess the effect of *in vitro* digestion over the dietary buffering capacity and the other one to estimate the rumination time in heifers fed with these diets.

Experiment 1

The specific buffering capacity of each ingredient,

Introducción

En los sistemas intensivos de producción de leche bovina se corre el riesgo de inducir acidosis ruminal a causa de las cantidades altas de concentrados energéticos que se usan en las dietas. Este padecimiento de las vacas puede ser causa de grandes pérdidas para los productores, puesto que los animales reducen su consumo de alimento y su producción de leche. Con el fin de reducir el riesgo de acidosis en los animales, los productores incluyen en las dietas sustancias minerales tampón, lo que representa un gasto elevado.¹ Entre los mecanismos naturales del animal para regular el pH del rumen sobresale el suministro continuo de sustancias tampón de la saliva.² El tiempo de rumia y la cantidad de saliva producida por el animal dependen de factores como la proporción y características físicas y químicas de la fibra detergente neutro (FDN) consumida y el tamaño de partícula.²⁻⁵ La dieta puede tener una función importante en la regulación del pH ruminal, puesto que los ingredientes dietarios presentan capacidades tampón particulares. Se ha postulado que la capacidad tampón de los ingredientes y nutrientes que componen una dieta es aditiva.^{6,7} Sin embargo, se desconoce el comportamiento de la capacidad tampón al mezclarse los ingredientes en una dieta y durante su digestión. Es posible que la capacidad tampón de los residuos dietarios se modifique⁷ en función de su digestión, puesto que las dietas poseen proporciones variables de las fracciones de rápida, intermedia y lenta degradación.⁸ La FDN es uno de los constituyentes de las dietas para ganado lechero, representa entre 27% y 37% de la dieta⁹ y ésta puede tener una fuerte influencia, no sólo en la digestión y el tiempo rumia, sino también en la capacidad tampón de las dietas y sus residuos de digestión, por lo que en esta investigación se realizaron dos experimentos: El primero con el objetivo de determinar la capacidad tampón de dos raciones con diferente proporción de FDN (27% y 37%) durante su digestión *in vitro*, y el segundo para estimar el tiempo de rumia inducida en vaquillas alimentadas con estas dietas.

Material y métodos

Se elaboraron dos dietas con diferente proporción de FDN (27% y 37%) y con los mismos ingredientes,⁹ para vacas de alta y baja producción lechera (Cuadro 1). La mezcla de los ingredientes, excepto el heno de alfalfa, se designó como suplementos. Las dietas se usaron en dos experimentos independientes; uno de ellos para determinar el efecto de la digestión *in vitro* en la capacidad tampón dietaria y el otro para esti-

Cuadro 1
INGREDIENTES Y COMPOSICIÓN QUÍMICA DE DOS DIETAS FORMULADAS PARA CONTENER
27% O 37% DE FDN
INGREDIENTS AND CHEMICAL COMPOSITION OF TWO FORMULATED DIETS CONTAINING
27% OR 37% OF NDF

Ingredient %	NDF in the diet (%)	
	27	37
Alfalfa hay	40.00	60.00
Grains of barley	42.14	20.25
Rice hulls	9.41	7.67
Molasses 5	.00	0.68
Corn stover	1.44	9.36
Mineral premixture	2.00	2.00
Nutrient		
NDF(%) 27	.00	37.00
ME (Mcal/kg of DM)*	2.77	2.50
CP (%)	14.50	14.50

*ME = metabolic energy calculated with the values⁹ of each ingredient.

and once they were mixed in the diets before they were submitted to *in vitro* digestion, was measured. For this purpose, the technique of Jasaetis *et al.*,⁶ was used, weighing 0.5 g of dry sample and ground to a particle size smaller than 1 mm. The sample was diluted in 50 ml of distilled water (pH 7.0), mixed and immediately titrated with HCl (0.01 N). The variation of pH for each volume of acid added was recorded, until a value of 4.0 ± 0.2 was reached at final point. The total volume of HCl (0.01 N) was used to calculate the buffering capacity, defined as the meq of HCl required to diminish the pH in one unit per gram of dry matter (DM). The relative buffering capacity for each ingredient in the supplement or in the complete diet was estimated by multiplying the proportion of the ingredients by its specific buffering capacity.

The variation of the buffering capacity during the *in vitro*¹⁰ digestion of the diets was determined in the residues of the diets incubated at 39°C with a ruminal inoculum obtained from Holstein heifers fed with the diet containing 37% of NDF. Digestion was stopped by refrigerating the residues at 4°C after 3, 6, 9, 12, 24 and 48 hours. No chemical inhibitors to stop the reaction were employed, trying to avoid any changes in the buffering capacity. The residue was centrifuged at 5 000 g during 30 min and the supernatant was eliminated. In order to calculate the buffering capacity, the sediment was diluted with 50 ml of neutral distilled water and titrated with HCl (0.01 N). After titrating, the residue was filtered through paper* and dried at 60°C for 48 h, to

mar el tiempo de rumia en vaquillas alimentadas con estas dietas.

Experimento 1

Se midió la capacidad tampón específica de cada ingrediente por separado y una vez mezclados en las dietas, antes de someterlas a la digestión *in vitro*. Con este propósito se usó la técnica de Jasaetis *et al.*,⁶ se pesaron 0.5 g de muestra seca y molida a un tamaño de partícula menor a 1 mm. La muestra se diluyó con 50 ml de agua destilada (pH 7.0), se mezcló e inmediatamente se tituló con HCl (0.01 N). La variación del pH se registró para cada volumen de ácido adicionado hasta alcanzar el valor de 4.0 ± 0.2 , en el punto final. El volumen total de HCl (0.01 N) sirvió para calcular la capacidad tampón definida como los meq de HCl requeridos para disminuir el pH en una unidad, por gramo de materia seca (MS). La capacidad tampón relativa para cada ingrediente en el suplemento o en la dieta completa se estimó multiplicando la proporción del ingrediente por su capacidad tampón específica.

La variación de la capacidad tampón durante la digestión *in vitro*¹⁰ de las dietas, se determinó en los residuos de las dietas incubadas a 39°C con un inóculo ruminal extraído de vaquillas Holstein alimentadas con la dieta que contenía 37% de FDN. La digestión fue detenida por refrigeración de los residuos a 4°C, a las 3, 6, 9, 12, 24 y 48 h; no se emplearon inhibidores químicos para detener la reacción, con el fin de evitar que éstos causaran cambios en la capacidad tampón.

determine the residual DM and express the buffering capacity per gram of residue.

The specific buffering capacity of the ingredients was compared with a completely random design with three repetitions. The buffering capacity of the residues was analyzed by a divided parcels design, where the biggest parcel was the incubation time and the smallest parcel corresponded to the NDF level. In both cases an analysis of variance ($\alpha = 0.05$) and Tukey's test were employed. To compare the buffering capacity of the supplements and the complete diets determined by titration with the estimated in an additive way,⁶ from the relative buffering capacity of the ingredients, an confidence interval for the buffering capacity of the diets was obtained.¹¹

Experiment 2

To determine the rumination time and the variation of the ruminal pH, six Holstein heifers (300 ± 17 Kg of body weight) with ruminal fistula were used. One of the formulated diets (27% or 37% of NDF) was randomly designated to each group formed by three heifers. These were fed with 10.5 kg of DM/d, divided in two similar rations (8 am and 8 pm). While feeding they were given the alfalfa hay first and then the mixture of the other ingredients (supplements). To determine ruminal pH, 50 ml of ruminal fluid were recollected from the ventral zone and from the forage stratum of the rumen, every 3 h after eating. The pH was determined with a potentiometer. The animal behavior was recorded every five minutes during 24 hours as: rumination (R), eating (E), drinking (D) or resting (RT). Rumination time was analyzed at lapses of 3, 6, 9 and 12 h in two periods (diurnal and nocturnal). The information obtained was analyzed with a divided parcel design,¹¹ where the biggest parcel corresponded to rumination time and the smallest parcel to the NDF level contained in the diet, with three repetitions.

Results

Experiment 1

The specific buffering capacity of the ingredients used in the diets is presented in Table 2. It was found that the BC of the mineral mixture and the alfalfa hay was high ($P < 0.01$); the corn stover, the cotton hull and the molasses obtained a medium buffering capacity ($P < 0.01$), while the barley showed a low buffering capacity ($P < 0.001$) (Table 2).

The relative BC of the ingredients, as well as the BC of the supplements and the complete diets are shown in Table 2. The relative contribution of the

El residuo se centrifugó a 5 000 g durante 30 min, y el sobrenadante fue eliminado. El sedimento se diluyó con 50 ml de agua destilada neutra y se tituló con HCl (0.01 N) para calcular la capacidad tampón. Después de la titulación, el residuo se filtró a través de papel* y se secó a 60°C por 48 h, para determinar la MS residual y expresar la capacidad tampón por gramo de residuo.

La capacidad tampón específica de los ingredientes se comparó de acuerdo con un diseño completamente al azar con tres repeticiones. La capacidad tampón de los residuos se analizó con un diseño de parcelas divididas, donde la parcela mayor fue el tiempo de incubación y la parcela menor correspondió al nivel de FDN. En ambos casos se aplicó un análisis de varianza ($\alpha = 0.05$) y la prueba de comparación de medias de Tukey. Para comparar la capacidad tampón de los suplementos y las dietas completas determinada por titulación con la estimada de manera aditiva⁶ a partir de la capacidad tampón relativa de los ingredientes, se obtuvo un intervalo de confianza de la capacidad tampón de las dietas.¹¹

Experimento 2

Para determinar el tiempo de rumia y la variación del pH ruminal, se utilizaron seis vaquillas Holstein (300 ± 17 kg de peso vivo) con fistula ruminal. Se asignó al azar una de las dietas formuladas (27% o 37%, FDN) a cada grupo formado por tres vaquillas, éstas se alimentaron con 10.5 kg de MS/d, en dos porciones iguales (8 am y 8 pm). Durante la alimentación se les proporcionó primero el heno de alfalfa y luego la mezcla de los otros ingredientes (suplementos). Para determinar el pH ruminal, se recolectaron por separado 50 ml de fluido ruminal de la zona ventral y del manto de forraje del rumen, cada 3 h posprandial. El pH se le determinó con un potenciómetro. El comportamiento animal se registró cada cinco minutos durante 24 h como: Rumiaando (R), comiendo (C), bebiendo (B) o descansando (D). El tiempo de rumia se analizó en lapsos de 3, 6, 9 y 12 h en dos periodos (diurno y nocturno). La información obtenida se analizó con un diseño de parcelas divididas,¹¹ donde la parcela grande se asignó al tiempo de rumia y la parcela chica al nivel de FDN en la dieta, con tres repeticiones.

Resultados

Experimento 1

La capacidad tampón específica para los ingredientes usados en las dietas se presenta en el Cuadro 2.

*Wathman, núm. 541.

Cuadro 2

CAPACIDAD TAMPÓN ESPECÍFICA Y RELATIVA DE LOS INGREDIENTES, SUPLEMENTOS Y
DIETAS FORMULADAS PARA 27 Y 37% DE FDN
SPECIFIC AND RELATIVE BUFFERING CAPACITY OF THE INGREDIENTS, SUPPLEMENTS
AND DIETS FORMULATED WITH 27% AND 37% OF NDF

Ingredient	Specific		Buffering capacity, meq $\times 10^{-3}$ HCl/g DM/pH)				
			Relative*				
			Supplement		Integral diet		
			27 %	37 %	27 %	37 %	
Grains of barley	35	19.	9	13.6	11.	9	5.3
Rice hulls	175	26.	6	34.4	16.	3	13.9
Molasses	168		17.7	12.	1	9.5	4.3
Corn stover	132		3.0	28.	3	1.9	11.6
Mineral premixture	231		6.7	10.	2	4.5	4.5
Alfalfa hay	242					92.7	139.1
Buffering capacity							
Estimated [†]		73.	9	98.5		136.8	178.7
Determined [§]		71.	4 $\pm$ 9.3	77.0 $\pm$ 13.2		147.0 $\pm$ 25.4	204.9 $\pm$ 2.3
Alfalfa hay [‡]						76.5 $\pm$ 23.3	127.9 $\pm$ 9.7

*obtained by multiplying the proportion of the ingredient in the supplement or in the diet and the specific buffering capacity for each ingredient; integral mixture of the ingredients, except for the alfalfa, just as it was given to the animals; [†] sum of the relative buffering capacities of each ingredient that conform the supplement or the diet; [§]obtained by titration in the laboratory for the supplement or the integral diet. The values preceded by the sign $\pm$ represent the confidence interval ($P < 0.10$); [‡]estimated by difference of the buffering capacity of the integral diet and the corresponding supplement.

mineral mixture to the buffering capacity of the complete diets is scarce ($4.5 \text{ meq} \times 10^{-3} \text{ HCl/g}$ of DM), as the diets contained only 2% of this ingredient (Table 1). In contrast, the fibrous ingredients, such as alfalfa hay and corn stover, gave them a higher buffering capacity. The contribution of the alfalfa hay to this dietary characteristic (92.7 and $139.1 \text{ meq} \times 10^{-3} \text{ HCl/g}$ of DM; Table 2), was two or three times higher than that given by the other ingredients as a whole or as supplements (44.1 and $39.6 \text{ meq} \times 10^{-3} \text{ HCl/g}$ of DM) (Table 2).

The buffering capacity estimated by the sum of the buffer capacities of the ingredients, in both types of diets and for the supplement of the diet with 27% of NDF, was similar ($P > 0.10$) to the buffering capacity determined by titration, according to the confidence interval. Nevertheless, the buffering capacity determined for the supplement of the diet with 37% was lower ($P < 0.10$) to the estimated (Table 2).

In vitro digestibility of the DM of the diets with 27%

Se encontró que la CT de la mezcla mineral y el heno de alfalfa fue alta ($P < 0.01$), la del rastrojo de maíz, la harina de cascarilla de algodón y la melaza tuvieron una capacidad tampón media ($P < 0.01$), y la cebada mostró una baja capacidad tampón ($P < 0.01$) (Cuadro 2).

La CT relativa de los ingredientes, así como la CT de los suplementos y las dietas completas se muestran en el Cuadro 2. La contribución relativa de la mezcla mineral a la capacidad tampón de las dietas completas es escasa ($4.5 \text{ meq} \times 10^{-3} \text{ HCl/g}$ de MS), en virtud de que las dietas sólo contenían 2% de este ingrediente (Cuadro 1). En contraste, los ingredientes fibrosos como el heno de alfalfa y el rastrojo de maíz, les proporcionan mayor capacidad tampón. El aporte del heno de alfalfa a esta propiedad dietaria (92.7 y $139.1 \text{ meq} \times 10^{-3} \text{ HCl/g}$ de MS; Cuadro 2) fue dos o tres veces mayor a la proporcionada por los otros ingredientes en su conjunto o suplementos (44.1 y $39.6 \text{ meq} \times 10^{-3} \text{ HCl/g}$ de MS) (Cuadro 2).

and 37% of NDF at 48 h of incubation was of 70.69 and 63.66, respectively. The buffering capacity of the residues of the diets *in vitro* digestion at time 0, was higher to the previously found (Table 3). This finding was provoked by the method used, as the molasses and the mineral mixture were dissolved, and with this, the proportion of corn stover and alfalfa hay in the dietary residues increased, and in consequence, the buffering capacity. On the other hand, the buffering capacity of the residues at 3, 6 and 24 of digestion, indicated as the average effect of digestion time, showed an increase when compared to the BC at time 0 (Table 3), although, it was not different ($P > 0.05$) to that of the residues at 9, 12 and 48 h of *in vitro* digestion. This shows that the BC varies during ruminal digestion.

As for the residues of the individual diets, it was found that the buffering capacity was higher ($P < 0.05$) in the residues of the diets with 37% of NDF at 3 and 6 h of incubation. The buffering capacity of both types of residues the rest of the times was similar ($P > 0.05$); in fact, at 48 h of digestion, the BC of both types of residues showed exactly the same buffering capacity ($477 \text{ meq} \times 10^{-3} \text{ HCl g/ of DM}$) (Table 3).

The highest buffering capacity for the residues of the diet with 27% of NDF, was found at 24 h of digestion ($581 \text{ meq} \times 10^{-3} \text{ HCl/g of DM}$) (Table 3). For the residues of the diet with 37% of NDF, the highest buffering capacity was reached quite before, at 3 h of incubation ($699 \text{ meq} \times 10^{-3} \text{ HCl/g of DM}$) (Table 3). This proved that the buffering behavior of the diets differs in function to the ingredients that conform it and to its digestion; particularly, to the proportion of dietary NDF.

Experiment 2

The daily rumination time was higher ($P < 0.05$)

La capacidad tampón estimada mediante la suma de las capacidades tampón de los ingredientes, en ambos tipos de dietas y para el suplemento de la dieta con 27% de FDN, fue similar ($P > 0.10$) a la capacidad tampón determinada por titulación, según el intervalo de confianza. Sin embargo, la capacidad tampón determinada para el suplemento de la dieta con 37% FDN fue menor ($P < 0.10$) a la estimada (Cuadro 2).

La digestibilidad *in vitro* de la MS de las dietas con 27% y 37% FDN a las 48 h de incubación fue de 70.69 y 63.66, respectivamente. La capacidad tampón de los residuos de las dietas al tiempo 0 de digestión *in vitro* resultó mayor (Cuadro 3) a la hallada previamente. Este hecho fue causado por el método utilizado puesto que la melaza y la mezcla mineral fue solubilizada, con lo cual se incrementó la proporción de rastrojo de maíz y de heno de alfalfa en los residuos dietarios y, por consiguiente, de la capacidad tampón. Por otro lado, la capacidad tampón de los residuos a las 3, 6 y 24 h de digestión, indicada como efecto medio del tiempo de digestión, mostró un incremento con respecto a la CT al tiempo cero (Cuadro 3); sin embargo, no fue diferente ($P > 0.05$) a la de los residuos al tiempo 9, 12 y 48 h de digestión *in vitro*. Esto muestra que la CT varía durante la digestión ruminal.

Respecto de los residuos de las dietas individuales, se halló que la capacidad tampón fue mayor ($P < 0.05$) en los residuos de la dieta con 37% de FDN a las 3 y 6 h de incubación, la capacidad tampón de ambos tipos de residuos a los demás tiempos fue similar ($P > 0.05$); de hecho, a las 48 h de digestión, la CT de ambos tipos de residuos mostraron exactamente la misma capacidad tampón ($477 \text{ meq} \times 10^{-3} \text{ HCl g/ de MS}$) (Cuadro 3).

La máxima capacidad tampón para los residuos de la dieta con 27% de FDN, se encontró a las 24 h de

Cuadro 3

CAPACIDAD TAMPÓN ($\text{meq} \times 10^{-3} \text{ HCl/g de MS/pH}$) DE LOS RESIDUOS DE LA DIGESTIÓN *IN VITRO* DE DIETAS CON 27% O 37% DE FIBRA DETERGENTE NEUTRO (FDN)
 BUFFERING CAPACITY ($\text{meq} \times 10^{-3} \text{ HCl/g of DM/pH}$) OF THE RESIDUES OF THE *IN VITRO* DIGESTION OF DIETS WITH 27% OR 37% OF NEUTRAL DETERGENT FIBER (NDF)

NDF, %	In vitro incubation time, h						
	0	3	6	9	12	24	48
27*	302	458 ^a	416 ^a	410 ^a	394 ^a	581 ^a	477 ^a
37	458	699 ^b	639 ^b	483 ^a	506 ^a	653 ^a	477 ^a

* The buffering capacity at 24 h, for the 27% level of NDF, differs of the other times; The buffering capacity at 3 h, for the level of 37% of NDF, differs of the other times; ^{a,b} values with a different literal in the same column are different ($P < 0.05$).

in the animals that consumed the diet with 37% of NDF (7 h/day), when compared to those that received the diet with 27% of NDF (5.38 h/day). The analysis of the rumination time in periods of 3 h did not show differences between diets (Table 4). The animal behavior was similar between each feeding period (12 h) under the conditions in which this experiment was conducted.

Ruminal pH decreased gradually and reached its lowest average value (pH 6.02) between 3 and 6 h after eating; after that, the pH increased until it reached its initial value (Figure 1). The drop of the pH was more drastic in those animals that consumed the diet with 27% of NDF, and particularly in the forage stratum (Figure 1).

Discussion

Experiment 1

The buffering capacity of the individual ingredients used in the formulation of the diets was similar to that recorded by Jasaetis *et al.*⁶ The buffering capacity decreased, according to the group of ingredients, as follows: mineral>fibrous>proteinaceous> energetic. The mineral mixture used in the experiment was a commercial formula for dairy cattle which contains, among other substances, calcium carbonate and phosphates. These chemical compounds can soften the drop of pH,^{7,12} and this causes the mineral mixture to have a high buffering capacity. Mineral buffers have proved to be highly soluble and shortly active in the rumen.¹³ It has been estimated that the highest buffer activity of these substances is between 2 and 8 h after eating.^{14,15}

On the other hand, the high buffering capacity manifested by the alfalfa is attributed to its high content of proteins (19%) and of NDF (37%), as both components possess a high buffering capacity.^{12,14} Moreover, it is possible that the minerals contained in the alfalfa also participate in its buffering capacity. The buffering capacity of forages has

digestión ($581 \text{ meq} \times 10^{-3} \text{ HCl/g de MS}$) (Cuadro 3); en contraparte, para los residuos de la dieta con 37% de FDN, la máxima capacidad tampón se alcanzó mucho antes, a las 3 h de incubación ($699 \text{ meq} \times 10^{-3} \text{ HCl/g de MS}$) (Cuadro 3). Con esto se demostró que el comportamiento tampón de las dietas difiere en función de los ingredientes que la constituyen y su digestión; particularmente, de la proporción de FDN dietario.

Experimento 2

El tiempo de rumia por día fue mayor ($P < 0.05$) en los animales que consumieron la dieta con 37% de FDN (7 h/d), que en aquellos que recibieron la dieta con 27% de FDN (5.38 h/d). Con el análisis del tiempo de rumia en periodos de 3 h no se halló diferencia entre dietas (Cuadro 4). El comportamiento animal fue similar entre cada periodo de alimentación (12 h), en las condiciones en que se realizó este experimento.

El pH ruminal disminuyó paulatinamente y alcanzó su valor promedio más bajo (pH, 6.02) entre las 3 y 6 h posprandial; posteriormente, el pH se incrementó hasta su valor inicial (Figura 1). La caída del pH fue más drástica en los animales que consumieron la dieta con 27% FDN, y particularmente en el estrato del manto de forraje (Figura 1).

Discusión

Experimento 1

La capacidad tampón de los ingredientes individuales usados en la formulación de las dietas fue similar a la registrada por Jasaetis *et al.*⁶ La capacidad tampón se redujo, según el grupo de ingredientes, así: minerales>fibrosos>proteínicos>energéticos. La mezcla mineral usada en el experimento fue una fórmula comercial para ganado lechero que contiene, entre otras sustancias, carbonato de calcio y fosfatos. Estos compuestos químicos tienen la propiedad de amortiguar la caída del pH^{7,12} y es la causa de que la mezcla mineral tenga capacidad tampón alta. Se ha

Cuadro 4

TIEMPO DE RUMIA DE VAQUILLAS ALIMENTADAS CON DIETAS CON 27% O 37% DE FDN
RUMINATION TIME OF HEIFERS FED WITH DIETS WITH 27% OR 37% OF NDF

NDF, %	Rumination time		Rumination time/d	
	min/3h	min/12 h	h	%
27	41.25 ^a	161.67 ^a	5.38 ^a	22.41
37	52.97 ^a	210.00 ^b	7.00 ^b	29.16
SE	6.6	8.2		

^{a,b} values with a different literal in the same column are different ($P < 0.05$); SE = standard error

been highly correlated with the amount of ashes.^{6,7} Nevertheless, in the present investigation, this group of nutriment in the alfalfa was not determined.

Because of the characteristics of the mineral buffers, these have a limited buffering action in the rumen; in contrast, the fibrous ingredients, such as alfalfa hay and corn stover, give a higher and more durable buffering capacity to the ruminal environment.

As the estimated and determined buffering capacity were the same ($P > 0.10$) in both types of diets and for the supplement with 27% of NDF, the additive characteristic of the buffering capacity was corroborated; even though, the fact that the buffering capacity assessed was lower ($P < 0.10$) to the estimated for the supplement of the diet with 37% of NDF (Table 2). This indicates also that under certain conditions, which are still unknown, there can be interactions among the ingredients, as Le Rutey *et al.*,¹³ found. Therefore, not always the buffering capacity of diets can be predicted from the capacity of the ingredients as proposed by Jasaetis *et al.*⁶ More studies to corroborate these facts are necessary.

It was found in this research that the BC of the diets varies during *in vitro* ruminal digestion; particularly, it was observed that the BC in the residues increased at two specific moments, the first of them at 3 and 6 h and the second one at 24 h of digestion (Table 3). This can be related to the fermentation of the starch fractions and proteins of fast degradation during the first hours and with the fraction of low degradation at 24 h.

In the residues of individual diets, the BC was higher ($P < 0.05$) in those of the diet with 37% of NDF, just at 3 and 6 h of incubation. At higher digestion times, the BC among the residues of the diets was similar, in fact, at 48 h both types of residues showed exactly the same buffering capacity ($477 \text{ meq} \times 10^{-3} \text{ HCl/g of DM}$) (Table 3). This last finding suggests that the substances which form the residues of the diets at prolonged digestion times (48 h) confer a similar buffering capacity, and this does not depend of its original conformation. Nevertheless, the time in which the highest buffering capacity for the residues is reached, depends on the type of diet. The highest BC for the residues of the diet with 27% of NDF was found at 24 h of digestion and at 3 h with the diet of 37% of NDF (Table 3). Without question, this fact must have implications in the ruminal metabolism.

Experiment 2

The highest drop of ruminal pH caused by the digestion of the 27% NDF diet was attributed to the fact that

demostrado que los tampones minerales tienen alta solubilidad y corta actividad en el rumen.¹³ Se calcula que la mayor actividad tampón de estas sustancias se encuentra entre las 2 y 8 h posprandial.^{14,15}

Por otro lado, la alta capacidad tampón que manifiesta la alfalfa se atribuyó a su alto contenido de proteína (19%) y de FDN (37%), ya que ambos componentes poseen capacidad tampón alta.^{12,14} Además, es posible que los minerales que contiene la alfalfa también participen en la capacidad tampón que manifiesta la alfalfa, puesto que la capacidad tampón de los forrajes se ha correlacionado altamente con el contenido de cenizas;^{6,7} no obstante, en la presente investigación no se determinó este grupo de nutrimentos en la alfalfa.

Dadas las características de los amortiguadores minerales, éstos tienen acción amortiguadora limitada en el rumen; en contraste, los ingredientes fibrosos, como el heno de alfalfa y el rastrojo de maíz, proporcionan una capacidad tampón mayor y más duradera en el ambiente ruminal.

En virtud de que la capacidad tampón estimada y determinada fue igual ($P > 0.10$) en ambos tipos de dietas y para el suplemento de la dieta con 27% de FDN, se corroboró la propiedad aditiva de la capacidad tampón; no obstante el hecho de que la capacidad tampón determinada haya sido menor ($P < 0.10$) a la estimada para el suplemento de la dieta con 37% FDN (Cuadro 2) indica también que en ciertas condiciones, por el momento desconocidas, pueden suscitarse interacciones entre los ingredientes, como los hallados por Le Ruyet *et al.*,¹³ de manera que no siempre se puede predecir la capacidad tampón de las dietas a partir de la mostrada por los ingredientes, como lo proponen Jasaetis *et al.*⁶ Sin embargo, se requieren más estudios para corroborar estos hechos.

En este estudio se halló que la CT de las dietas varía durante la digestión ruminal *in vitro*; particularmente, se observó que la CT en los residuos se incrementó en dos momentos específicos, el primero de ellos a las 3 y 6 h, y el segundo a las 24 h de digestión (Cuadro 3), lo cual pudo estar relacionado con la fermentación de las fracciones de almidón y proteína de rápida degradación a las primeras horas y con la fracción de lenta degradación a 24 h.

En los residuos de las dietas individuales, la CT fue mayor ($P < 0.05$) en los residuos de la dieta con 37% de FDN, tan sólo a las 3 y 6 h de incubación. A tiempos mayores de digestión, la CT entre los residuos de la dietas fue similar; de hecho, a las 48 h ambos tipos de residuos mostraron exactamente la misma capacidad tampón ($477 \text{ meq} \times 10^{-3} \text{ HCl/g de MS}$) (Cuadro 3). Esto último sugiere que las sustancias que componen los residuos de las dietas a tiem-

this diet contained the highest quantity of starch of high and fast ruminal digestion, which came from the barley (Table 1), in comparison to the 37% NDF diet. This is a fact totally demonstrated in other investigations. On the contrary, there is no evidence of the causes by which the ruminal pH in the forage stratum was lower than in the ventral lay. It is possible that this phenomena is due to three causes: *a)* the area of the lay of the stratum that is in contact with the ruminal wall, where the VFA are absorbed, is smaller in comparison with this same area in the ventral stratum; *b)* the total volume is lower in the zone of lay of forage; and *c)* the compact structure of the forage stratum, avoids the acids produced to be diluted and, therefore, they are more concentrated.¹⁵ Although there are no evidences that clearly prove it, this result corroborates the important function that dietary fiber and ingredients of low degradation have in the regulation of the pH of the forage stratum in the rumen, as in this place the highest drop of pH may have a stronger impact in the activity of the cellulolytic bacteria and also because the highest proportion of fibrous food is found in this stratum.

Because of the tendencies followed by the buffering capacity of the residues, rumination time and ruminal pH (Figure 2), it was shown that the highest buffering capacity is found between 3 and 6 h after eating coinciding with the moment in which ruminal pH is lower. On the other hand, as the highest rumination time was found between 6 and 9 h after eating, when the pH comes back to its initial value,¹⁵

pos prolongados de digestión (48 h) le confiere una capacidad tampón similar, independientemente de su composición inicial. Sin embargo, el tiempo en el que se alcanza la máxima capacidad tampón para los residuos depende del tipo de dieta. La máxima CT para los residuos de la dieta con 27% de FDN se halló a las 24 h de digestión y a 3 h con la dieta de 37% de FDN (Cuadro 3). Sin duda, este hecho debe tener implicaciones en el metabolismo ruminal.

Experimento 2

El mayor descenso en el pH ruminal causado por la digestión de la dieta con 27% FDN se atribuyó a que esta dieta contenía mayor cantidad de almidón de alta y rápida digestión en el rumen, proveniente de la cebada (Cuadro 1), en comparación con la dieta con 37% de FDN. Lo anterior es un hecho plenamente demostrado en otras investigaciones. Por el contrario, no hay evidencia de las causas por las que el pH ruminal en el estrato del manto de forraje fuera menor que en el estrato ventral. Es muy posible que dicho fenómeno se deba a tres causas: *a)* El área del estrato del manto que está en contacto con la pared ruminal, lugar donde se lleva a cabo la absorción de AGV, es menor en comparación a esta misma área en el estrato ventral; *b)* el volumen total es menor en la zona del manto de forraje; y *c)* la propia estructura compacta del estrato de forraje, evita que los ácidos producidos se diluyan y, por ende, se encuentren más concentrados.¹⁵ A pesar de que no existen evidencias que demuestren claramente lo anterior, este

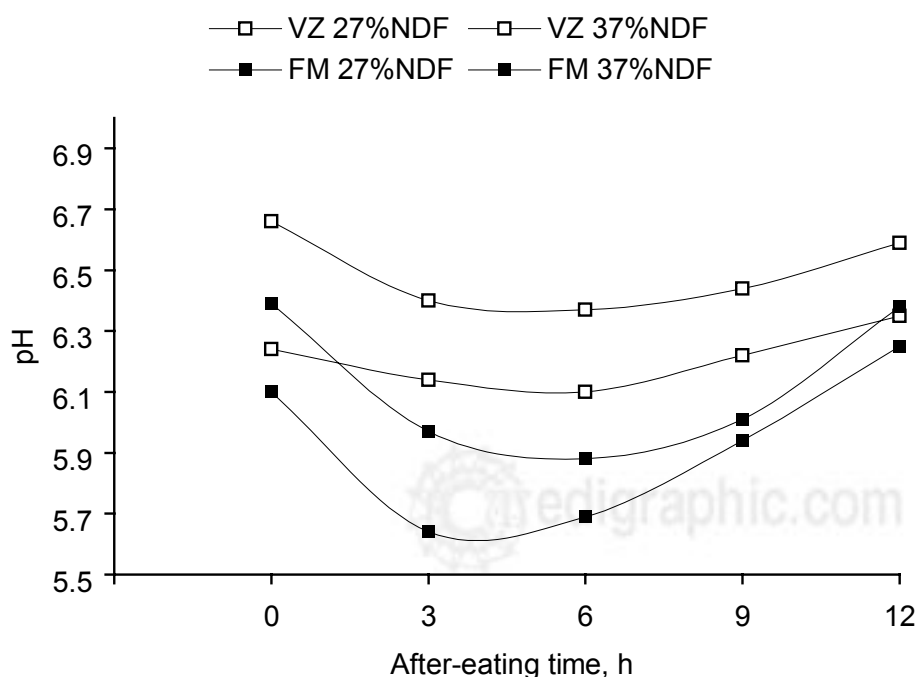


Figura 1. Variación del pH en la zona ventral (VZ) y del manto de forraje (MF) en el rumen de vacas alimentadas con dietas que contenían 27% o 37% de FDN. pH variation in the ventral zone (VZ) and in the stratum forage (FS) in the rumen of cows fed with diets containing 27% or 37% of NDF.

the buffering capacity of digestion residues can be complementary with the rumination for the control of the ruminal pH of dairy cattle. This fact may have important biological and economical implications in intensive production systems, where animals are at high risk of acquire acidosis, because that along with the balancing of nutriment and the buffering capacity of the diet may have to be considered too, with the purpose of avoiding the use of buffer mineral solutions and decreasing the expenses they generate. Nevertheless, the *in vivo* behavior depends on factors such as the degradation rate, time of ruminal retention and size of the particle, which in future investigations must be studied in relationship with the dietary buffering capacity.

The results of this study indicate that the level of dietary NDF has two important effects in the buffering capacity. The first one is given by its intrinsic buffering capacity and it is related to the level of NDF and this effect can be important only during the first hours of digestion. The second one is given by the effect that the NDF has in stimulating rumination which has a higher impact during fermentation.

Referencias

1. Erdman RA. Dietary buffering requirements of the lactating dairy cow: A review. J Dairy Sci 1988;75:3246-3252.
2. Cassida KA, Stokes MR. Eating and resting, salivation in early lactating dairy cows. J Dairy Sci 1986;69:1282-1292.
3. Beauchemin KA, Farr BI, Rode LM. Enhancement

resultado corrobora la importante función que tiene la fibra dietaria y los ingredientes de lenta degradación en la regulación del pH del estrato del manto de forraje del rumen, dado que en este lugar la caída mayor del pH puede tener un impacto más fuerte en la actividad de las bacterias celulolíticas y debido a que en este estrato se encuentra la mayor proporción de alimento fibroso.

En virtud de las tendencias seguidas por la capacidad tampón de los residuos, el tiempo de rumia y el pH ruminal (Figura 2), se mostró que la mayor capacidad tampón se halla entre las 3 y 6 h pospandrial, lo cual coincide con el momento en que el pH ruminal es menor. Por otro lado, puesto que el mayor tiempo de rumia se encontró entre la sexta y novena horas pospandriales, momento en el que el pH retorna a su valor inicial,¹⁵ la capacidad tampón de los residuos de la digestión puede ser complementaria con la rumia en el control del pH ruminal del ganado lechero. Este hecho puede tener implicaciones biológicas y económicas importantes en los sistemas de producción intensiva, donde los animales tienen un riesgo alto de padecer acidosis, ya que junto con el balanceo de nutrimentos, se debe considerar la capacidad tampón que pueda ofrecer la dieta, con la finalidad de evitar el uso de soluciones minerales amortiguadoras y reducir los gastos que conlleva. No obstante, el comportamiento *in vivo* depende de factores como la tasa de degradación, tiempo de retención ruminal y tamaño de partícula, los cuales deben estudiarse en relación con la capacidad tampón dietaria en futuras investigaciones.

Los resultados de este estudio indican que el nivel

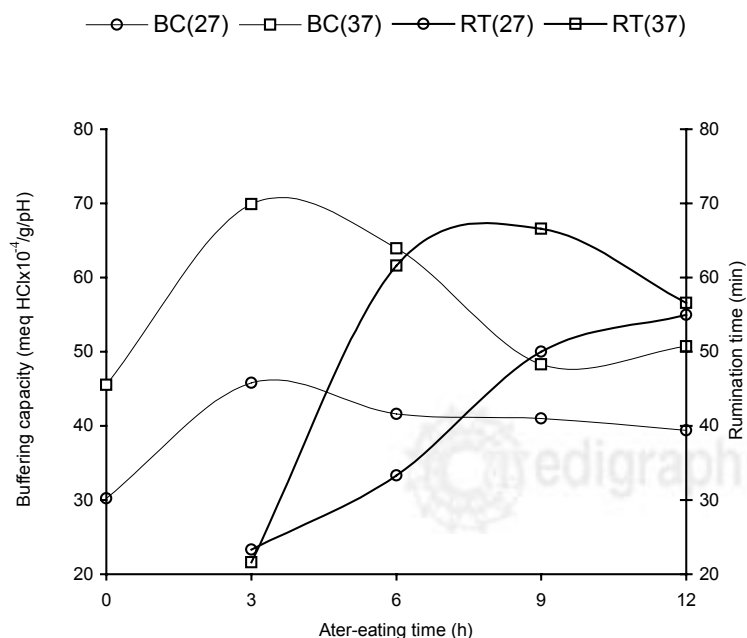


Figura 2. Tiempo de rumia (TR) en vacas alimentadas con dietas que contenían 27% o 37% de FDN, y capacidad tampón (CT) de los residuos de las dietas durante su digestión *in vitro*. Rumination time (RT) in cows fed with diets containing 27% or 37% of NDF, and buffering capacity (BC) of the residues of the diets during their *in vitro* digestion.

- of the effective fiber content of barley-based concentrated feed to dairy cows. *J Dairy Sci* 1991;74:3128-3139.
4. Jacques K, Harmon L, Croom WJ, Hagler WM JR. Estimating salivary flow and ruminal water balance of intake diet feeding pattern and salafamine. *J Dairy Sci* 1989;72:443-452.
 5. Santini FJ, Lu CU, Potehoiba MJ, Fernandez JM, Coleman SW. Dietary fiber and milk yield, mastication, digestion and rate of passage in goats fed alfalfa hay. *J Dairy Sci* 1992;75:209-219.
 6. Jasaetis DK, Wolth JE, Evans JL. Influence of feed ion content on buffering capacity ruminant of feedstuffs *in vitro*. *J Dairy Sci* 1987;70:1391-1395.
 7. Fadel J. *In vitro* buffering capacity changes of seven commodities under controlled moisture and heating conditions. *J Dairy Sci.* 1992; 75:1287-1295.
 8. Nocek JE, Russell JB. Protein and energy as an integrated system: relationship of ruminal protein and carbohydrate availability to microbial synthesis and milk production. *J Dairy Sci* 1988;71:2070-2107.
 9. National Research Council. Nutrient requirements of dairy cattle. Washington DC: National Academic of Science 1989.
 10. Tilley JM, Terry RA. A two-stage technique for the *in vitro* digestion of forage crops. *J Br Grass Soc* 1963;28:104-111.
 11. Steel RGD, Torrie JH. Principles and procedures of

de FND dietario tiene dos efectos importantes en la capacidad tampón. El primero está dado por su capacidad tampón intrínseca y está relacionado con el nivel de FDN y cuyo efecto puede ser importante sólo durante las primeras horas de la digestión. El segundo está dado por el efecto que tiene la FDN en la estimulación de la rumia y tiene un mayor impacto durante la fermentación.

-
- statistics: a biometrical approach. 2nd ed. New York. McGraw-Hill 1980.
12. Lehninger AL, Nelson DL, Cox MM. Principles of biochemistry. 2nd ed. New York: Worth Publishers, 1993.
 13. Le Ruyet P, Tucker WB. Ruminal buffer temporal effects on buffering capacity and pH of ruminal fluid from cows feed a high concentrate diet. *J Dairy Sci* 1992; 75:1069-1077.
 14. Allen MS, Mcburney MI, Van Soest PJ. Cation-exchange capacity of plant cell walls at natural pH. *J Sci Food Agric* 1985; 36:1065-1072.
 15. Miranda LAR. Efecto de dos cultivos microbianos (*Saccharomyces cerevisiae* o *Aspergillus oryzae*) y dos niveles de fibra detergente neutro en la fermentación ruminal. (tesis de maestría) Montecillo (Estado de México) México: Colegio de Posgraduados, 1994.