

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA CHAPINGO
DEPARTAMENTO DE ENSEÑANZA, INVESTIGACIÓN
Y SERVICIO EN ZOOTECNIA
POSGRADO EN PRODUCCIÓN ANIMAL

**FERMENTACIÓN RUMINAL Y CAPACIDAD DE REDUCCIÓN DE
METANO EN RUMIANTES CON SUBPRODUCTOS DEL CAFÉ**

TESIS

Que como requisito parcial
para obtener el grado de:

MAESTRO EN CIENCIAS EN INNOVACIÓN GANADERA

Presenta:

Carlos Enrique Mireles Martínez

Bajo la supervisión de: **Laura Haydée Vallejo Hernández, Dra.**



APROBADA



Chapingo, Estado de México, junio 2024

FERMENTACIÓN RUMINAL Y CAPACIDAD DE REDUCCIÓN DE METANO EN RUMIANTES CON SUBPRODUCTOS DEL CAFÉ

Tesis realizada por **CARLOS ENRIQUE MIRELES MARTÍNEZ**, bajo la supervisión del Comité Asesor indicado, aprobada por el mismo y aceptada como requisito parcial para obtener el grado de:

MAESTRO EN CIENCIAS EN INNOVACIÓN GANADERA

DIRECTOR:



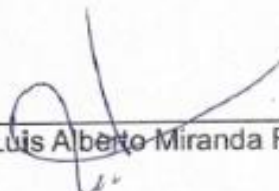
Dra. Laura Haydée Vallejo Hernández

CODIRECTOR



Dr. Jacinto Efrén Ramírez Bribiesca

ASESOR:



Dr. Luis Alberto Miranda Romero

ASESOR:



Dra. Claudia Cecilia Márquez Mota

DEDICATORIAS

A mis padres quienes son mi fortaleza e inspiración.

Ma. Esthela Martínez Hernández; por ser un pilar de amor en mi vida, y siempre estar en el momento preciso. Gracias por el apoyo incondicional.

Carlos Gerardo Mireles Martínez; la semilla que con amor sembró en su hijo al caminar en los corrales rindió frutos, y aquí están los resultados.

A mis hermanas **María Mayela Mireles Martínez** y **Claudia Nelly Mireles Martínez**, quienes en la distancia siempre estuvieron cerca.

A mi abuelo **José Belem Mireles López[†]**, por forjar en mí el amor por el campo, las palabras que de niño escuché, hoy tienen sentido.

A mi compañera de vida **Andrea Sánchez Chávez**, por su apoyo incondicional en este proyecto, por acompañarme en cada triunfo y cada tropiezo.

Con todo mi cariño y amor:

Carlos Mireles

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Autónoma Chapingo, mi *alma mater*, por brindarme todas la oportunidades y facilidades para lograr el crecimiento académico y personal trazado.

Al Posgrado en Producción Animal, por brindarme la oportunidad de formarme en sus aulas, gracias por las facilidades otorgadas para el término de este proyecto.

Al Consejo Nacional de Humanidades, Ciencias y Tecnologías (CONAHCyT), por el apoyo financiero otorgado durante mis estudios de maestría.

A la D. en C. Laura Haydée Vallejo Hernández, por creer en mí, y haber dirigido este trabajo de investigación; además de fungir como una guía, un apoyo y una amiga en este periodo, por todas las enseñanzas brindadas, GRACIAS.

Al Dr. Jacinto Efrén Ramírez Bribiesca por ser co-director en este trabajo de investigación, gracias por los consejos y guía en cada paso.

Al Dr. Luis Alberto Miranda Romero, por prestar un poco de sus conocimientos y experiencia para mi formación profesional.

A Dra. Claudia Cecilia Márquez Mota, por su disponibilidad y apoyo en este proyecto.

A todos mis amigos Andrea, Narda, Lupita, Mauricio, Noe, Alvin y Alfredo, gracias por el apoyo brindado en este periodo.

A los profesores del Posgrado en Producción Animal, quienes con consejos o regaños fueron parte de mi formación. A los profesores y compañeros de COLPOS y FMVZ-UNAM, quienes en su momento compartieron y apoyaron este proyecto.

Todo hombre prudente debe discurrir siempre por las vías trazadas por los grandes hombres e imitar a aquellos que han sobresalido extraordinariamente por encima de los demás, con el fin de que, aunque no se alcance su virtud algo nos quede.

Nicolás Maquiavelo.

DATOS BIOGRÁFICOS



Datos personales

Nombre	Carlos Enrique Mireles Martínez
Fecha de nacimiento	20 de febrero de 1998
Lugar de nacimiento	Cerritos, México.
CURP	MIMC980220HSPRRR03
Profesión	Ingeniero Agrónomo Especialista en Zootecnia
Cédula Profesional	13019213

Desarrollo académico

Maestría (2022-2023)	Universidad Autónoma Chapingo Posgrado en Producción Animal Maestría en Ciencias en Innovación Ganadera
Licenciatura (2017-2021)	Universidad Autónoma Chapingo DEIS Zootecnia Ingeniero Agrónomo Especialista en Zootecnia
Preparatoria (2014-2017)	Universidad Autónoma Chapingo Preparatoria Agrícola

CONTENIDO

DEDICATORIAS	ii
AGRADECIMIENTOS	iii
DATOS BIOGRÁFICOS	v
CONTENIDO	vi
LISTA DE CUADROS	viii
LISTA DE CUADROS EN EL ARTÍCULO	viii
LISTA DE FIGURAS	ix
LISTA DE FIGURAS EN EL ARTÍCULO	ix
LISTA DE APENDICES	ix
ABREVIATURAS	x
1. Introducción	1
1.1 Literatura citada	2
2. Revisión de literatura	3
2.1 Impacto ambiental de la ganadería	3
2.2 Anatomía y ambiente ruminal	4
2.3 Fermentación ruminal	6
2.3.1 Fermentación de carbohidratos estructurales	6
2.4 Metanogénesis	7
2.4.1 Metanógenos ruminales	7
2.4.2 Vías metanogénicas a nivel ruminal	8
2.4.3 Estrategias de mitigación de emisión de metano entérico	11
2.5 Residuo de café gastado (RCG)	12
2.6 Efecto de los fenoles en la producción animal	14
2.7 Cafeína	14
2.8 Literatura citada	15
3. Inclusión deL SUBPRODUCTO DE Café SOBRE LA fermentación RUMINAL Y METANO <i>in vitro</i> EN dietas para ovinos	20

3.1	Resumen-----	20
3.2	Abstract-----	21
3.3	Introducción -----	22
3.4	Materiales y métodos -----	22
3.4.1	Material experimental-----	22
3.4.2	Animales y dietas experimentales -----	23
3.4.3	Cinética de la producción de gas de fermentación, degradabilidad de la materia seca y fracciones fermentables <i>in vitro</i> -----	23
3.4.4	Diseño experimental-----	26
3.5	Resultados-----	27
3.6	Discusión-----	32
3.7	Conclusión-----	34
3.8	Literatura citada -----	34

LISTA DE CUADROS

Cuadro 1. Vías metanogénicas en el rumen.	10
Cuadro 2. Composición química ^z del residuo de café gastado (%).	13

LISTA DE CUADROS EN EL ARTÍCULO

Cuadro. 1. Solución mineral para la preparación de inóculo ruminal.	25
Cuadro. 2. Solución reductora para la preparación de inóculo ruminal.	26
Cuadro. 4. Efecto de la inclusión de café gastado sobre las fracciones de fermentación in vitro ^z	30
Cuadro. 5. Efecto de la inclusión de café gastado sobre los índices de impacto ambiental a 24 h ^z	31

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Fermentación de carbohidratos y flujo de electrones	7
Figura 2. Posibles rutas metabólicas ruminales de la glucosa e interrelacionadas en los moles producidos de metano a partir de un mol de glucosa.	9

LISTA DE FIGURAS EN EL ARTÍCULO

Figura. 1. Efecto de la inclusión de residuo de café gastado (RCG; 0, 5 y 10 %) y la adaptación del inóculo (A: adaptado e INA: inadaptado) en la producción de gas acumulado a las 72 h.	28
Figura 2. Análisis de efectos principales e interacción del residuo de café gastado (RCG) y adaptación del inóculo (A: adaptado; INA: inadaptado) en el volumen de gas producido a las 72 h.	28
Figura 3. Análisis de efectos principales e interacción del residuo de café gastado (RCG) y adaptación del inóculo (A: adaptado; INA: inadaptado) en la degradabilidad de la materia seca (DIVMS72).	29

LISTA DE APENDICES

APENDICE 1. Efecto del café gastado en la población de folículos antrales de ovejas	38
---	----

ABREVIATURAS

AGV	Ácidos grasos volátiles
C	Carbono
CH ₄	Metano
CO ₂	Dióxido de carbono
Fe ³⁺	Ion hierro
GEI	Gas de efecto invernadero
H ₂ SO ₄	Ácido sulfúrico
H ⁺	Iones hidrógeno
H ₂	Dihidrógeno
IPCC	Intergovernmental Panel on Climate Change
MS	Materia seca
N	Nitrógeno
N ₂ O	Óxido nitroso
NH ₃	Amoniaco
PC	Proteína cruda
RCG	Residuo de café gastado
SO ₄ ²⁻	Sulfato
TPG	Técnica de producción de gas

1. INTRODUCCIÓN

Los rumiantes verdaderos (ovinos, caprinos, bovinos y antílopes) son un grupo de herbívoros de gran importancia, por ser capaces de convertir material vegetal no digestible para los humanos en proteína animal, presentan un sistema digestivo dividido en cuatro compartimentos: retículo, rumen, omaso y abomaso; el retículo-rumen alberga un complejo microbioma en donde interactúan bacterias, hongos, protozoarios y arqueas que son los responsables de la capacidad de degradación del material vegetal; en este compartimento se realiza una fermentación anaerobia que genera productos energéticos potencialmente disponibles como ácidos grasos de cadena corta (principalmente acético, propiónico y butírico), biomasa microbiana y alcoholes; además de fuentes no disponibles como metano (CH_4), dióxido de carbono (CO_2) y ácido sulfúrico (H_2SO_4) (Shabat et al., 2016; Van Soest, 1982).

El CH_4 es un gas compuesto por una molécula de carbono y cuatro de oxígeno, considerado un gas de efecto invernadero. Aun cuando existen otras fuentes antropogénicas de este gas (industria de combustibles fósiles, vertederos, quema de biomasa y producción de arroz), los rumiantes son los principales emisores a nivel mundial (Ripple et al., 2014). El INECC (2015) reportó que en México 7.8 % de las emisiones de gases de efecto invernadero provienen de la fermentación ruminal. Por esta razón, actualmente se están investigando diferentes métodos para mitigar la emisión de metano entérico, como la selección genética, reducción de la proporción forraje:concentrado, uso de aceites y aditivos en dietas (Palangi et al., 2022). Estos aditivos incluyen antibióticos sintéticos y metabolitos secundarios de plantas como ácido cafeico, ácido tánico, quercetina, ácido salicílico entre otros (Jin et al., 2020; Nørskov et al., 2023).

Los subproductos de la industria del café contienen metabolitos secundarios como taninos, saponinas y cafeína (Ashihara & Crozier, 2001; Maxiselly et al., 2022). La producción de café genera diferentes subproductos a lo largo de su procesamiento (pulpa, cascarilla y café gastado). El café gastado, es el residuo

del grano utilizado en la preparación de bebidas a base de este producto y puede llegar a representar de 40 a 45 % del peso fresco del fruto (Desai et al., 2020). Estos subproductos pueden ser una alternativa natural y económicamente viable para la reducción del impacto ambiental de la producción animal, además de ser una alternativa para el manejo sustentable de este residuo.

Con el objetivo de evaluar la viabilidad de la integración de subproductos del café en dietas de rumiantes y su posible uso como modificador de la fermentación e inhibidor de metano a nivel ruminal, se planteó un experimento bajo la técnica de producción de gas *in vitro*.

El Capítulo Dos de este documento presenta una revisión de literatura, donde se describe la problemática ambiental, el estado actual de la emisión de gases de efecto invernadero causado por la ganadería, el proceso de metanogénesis ruminal y las alternativas principales de mitigación de metano entérico en la producción animal.

El Capítulo Tres evalúa el efecto de la inclusión de residuo de café gastado en dietas de ovinos en mantenimiento, y la adaptación ruminal a este subproducto; se analizan parámetros de fermentación ruminal y producción de metano.

1.1 Literatura citada

- Ashihara, H., & Crozier, A. (2001). Caffeine: a well known but little mentioned compound in plant science. *Trends in Plant Science*, 6(9), 407-413. [https://doi.org/10.1016/s1360-1385\(01\)02055-6](https://doi.org/10.1016/s1360-1385(01)02055-6)
- Desai, N. M., Varun, E., Patil, S., Pimpley, V., & Murthy, P. S. (2020). Environment pollutants during coffee processing and its valorization. *En Springer eBooks*. 1-13. https://doi.org/10.1007/978-3-319-58538-3_209-1
- Instituto Nacional de Ecología y Cambio Climático, INECC. (2015). Inventario Nacional de emisiones de gases y compuestos de efecto invernadero. gob.mx. <https://www.gob.mx/inecc/acciones-y-programas/inventario-nacional-de-emisiones-de-gases-y-compuestos-de-efecto-invernadero>
- Jin, Q., Wang, Y., Tan, X., Liu, G., Zhang, X., Liu, X., Wan, F., & Chen, W. (2020). Caffeic acid modulates methane production and rumen fermentation in an opposite way with high-forage or high-concentrate substrate *in vitro*.

- Journal of the Science of Food and Agriculture*, 101(7), 3013-3020.
<https://doi.org/10.1002/jsfa.10935>
- Maxiselly, Y., Anusornwanit, P., Rugkong, A., Chiarawipa, R., & Chanjula, P. (2022). Morpho-Physiological traits, phytochemical composition, and antioxidant activity of canephora coffee leaves at various stages. *International Journal of Plant Biology*, 13(2), 106-114.
<https://doi.org/10.3390/ijpb13020011>
- Nørskov, N. P., Battelli, M., Curtasu, M. V., Olijhoek, D., Chassé, É., & Nielsen, M. O. (2023). Methane reduction by quercetin, tannic and salicylic acids: influence of molecular structures on methane formation and fermentation *in vitro*. *Scientific Reports*, 13(1). <https://doi.org/10.1038/s41598-023-43041-w>
- Ripple, W. J., Smith, P., Haberl, H., Montzka, S. A., McAlpine, C., & Boucher, D. H. (2013). Ruminants, climate change and climate policy. *Nature Climate Change*, 4(1), 2-5. <https://doi.org/10.1038/nclimate2081>
- Shabat, S. K. B., Sasson, G., Doron-Faigenboim, A., Durman, T., Yaacoby, S., Miller, M. E. B., White, B. A., Shterzer, N., & Mizrahi, I. (2016). Specific microbiome-dependent mechanisms underlie the energy harvest efficiency of ruminants. *The ISME Journal*, 10(12), 2958-2972.
<https://doi.org/10.1038/ismej.2016.62>

2. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1 Impacto ambiental de la ganadería

En el periodo de 2011 a 2020 la temperatura ambiental global incrementó 1.1 °C con respecto al periodo 1850 a 1900, debido principalmente a la emisión de gases de efecto invernadero (GEI) entre los más importantes se encuentran el CO₂ y el CH₄ (Calvin et al., 2023). Este incremento en la temperatura global pone en riesgo la seguridad alimentaria mundial pues afecta negativamente a los sistemas de producción de alimentos e incrementa el precio de los alimentos. El grupo de trabajo número dos del IPCC (2022), menciona que el sector agrícola y ganadero se ve afectado no sólo por cambios en la fenología de plantas, en los ciclos hídricos y climáticos, sino también por afectar la eficiencia de polinizadores; el incremento en la temperatura y humedad aumenta el riesgo de contaminación con micotoxinas de los productos alimenticios.

El incremento de CO₂ reduce la concentración de nutrientes en cultivos, agravando el déficit de micronutrientes en humanos y animales. Myers et al. (2014) realizaron un metaanálisis en donde reportan que concentraciones mayores a 546 ppm en trigo se asociaron con 9.3 y 5.1 % menos zinc y hierro respectivamente; además de una disminución de 6.3 y 7.8 % de la proteína en cultivos de trigo y arroz respectivamente.

Los principales gases de efecto invernadero (GEI) de acuerdo con su concentración atmosférica son el CO₂ (67 %), y el CH₄ (24 %), la industria energética es el sector de mayor emisión de GEI con un aporte de 64 %, mientras que el sector agrícola, silvicultura y otros usos de la tierra aportan 19 %; sin embargo, la fermentación ruminal y el manejo de excretas representan 69.5 % del aporte de este último sector, concentrando las emisiones en estados de mayor densidad de población bovina como Jalisco, Durango y Veracruz (INECC, 2015; Scarpelli et al., 2020).

Una revisión realizada por Yan et al. (2024) mencionan que las emisiones de GEI por estiércol son producidas en el almacenamiento, el procesamiento y alojamiento; durante su aplicación se estima que los GEI generan una pérdida de 0.08 % de C por CH₄, un 22 % y 2.1 % de N por NH₃ y N₂O, respectivamente. En la fermentación ruminal el principal GEI es el CH₄, el cual representa una pérdida del 2 al 12 % de la energía total consumida por los rumiantes (Cersosimo & Wright, 2015).

2.2 Anatomía y ambiente ruminal

Los rumiantes presentan un sistema digestivo dividido en cuatro compartimentos (retículo, rumen, omaso y abomaso), esta revisión se centra en la descripción del funcionamiento y ambiente ruminal, por las implicaciones en la emisión de GEI y nutrición de los rumiantes.

El rumen junto con el retículo y el omaso, forman parte del estómago anterior o pre-estómagos del rumiante, desarrollado para la fermentación de los

carbohidratos estructurales de las plantas. Membrive (2016) menciona que el rumen “se extiende desde el cardias hasta la entrada pélvica, desde el techo abdominal hasta el suelo, llena la mayor parte del antímero izquierdo total de la cavidad abdominal y, a través del segmento caudal-ventral, pasa por el plano medio y llega a la mitad derecha de la cavidad abdominal”; la capacidad volumétrica del rumen varía por la edad y tamaño del rumiante, siendo de 100 a 300 L en bovinos adultos y 15 L en ovinos, representando el 80 y 75 % de la capacidad volumétrica del estómago, respectivamente.

Las condiciones fisicoquímicas y biológicas prevalentes en el hábitat ruminal proporcionan un ambiente propicio para la fermentación microbiana de los alimentos. Tales condiciones son: ambiente anaerobio, potencial redox de 150 a -350 mV, temperatura de 36 a 40 °C y pH de 5.6 a 6.9 (Nagaraja, 2016). Se encuentra dividido en tres fases: 1) fase líquida, en la que se hayan disueltas partículas de alimento de baja densidad; 2) fase sólida, conformada por partículas de alta densidad; y 3) fase gaseosa, ubicada en la parte dorsal compuesta principalmente por CH₄ (26.8 %) y CO₂ (65.5 %), además de gases trazas como H (0.2 %), O (0.5 %) y N (7 %) (Membrive, 2016; Reddy & Hyder, 2023).

El microbioma ruminal está constituido por consorcios de aproximadamente 4 a 6 x 10⁶ protozoos ciliados mL⁻¹; las bacterias son las más abundantes variando de 10⁶ a 10⁸ g⁻¹ de contenido ruminal, de las cuales 80-90 % son gramnegativas (en rumiantes alimentados con forrajes); los hongos presentes se dividen en anaerobio facultativo y anaerobio obligado, siendo este último el que contribuye a la digestión, por su ciclo de vida es difícil contabilizarlos, pero se estima que representan 10 % de la masa microbiana; los bacteriófagos son virus que infectan bacterias, tienen actividad lítica, lisogénica y específica en algunas bacterias, se estima que la población oscila entre 10⁶ y 10¹¹ mL⁻¹; finalmente los metanógenos son microorganismos del dominio *Archaea*, diferentes a las bacterias por la ausencia de peptidoglicano, representan del 2 a 4 % de las procariotas ruminales (Nagaraja, 2016).

2.3 Fermentación ruminal

La fermentación ruminal es un proceso anaerobio de oxidación de sustratos, cuyos electrones liberados son utilizados para la reducción de compuestos intermediarios a productos finales como etanol, lactato y ácidos grasos volátiles (AGV), los cuales representan 70 % de la energía para el rumiante; otros aceptores de electrones en el rumen son CO_2 y protones (H^+) para producir formiato y H_2 respectivamente, pero la acumulación de estos compuestos es perjudicial para la fermentación ruminal (Leahy et al., 2022; Reddy & Hyder, 2023).

2.3.1 Fermentación de carbohidratos estructurales

La pared celular vegetal está conformada por tres polisacáridos: celulosa (β -glucosa), hemicelulosa (pentosas con cadena lineal de xilosa y enlaces de arabinosa, ácidos urónicos y galactosa) y pectina (D-galacturonato) (Pereira et al., 2022).

Las hexosas son fermentadas por la vía glucolítica, para la producción los principales AGV (acetato, propionato y butirato); las pentosas a su vez producen gliceraldehído-3-fosfato y fructosa-6-fosfato, los cuales pueden entrar en la glucólisis (Figura 1). Ungerfeld (2020) señala que durante el primer paso en la producción de acetato y butirato se genera H^+ metabólico, las hidrogenasas transfieren los e^- para la formación de H_2 , mismo que es utilizado por el consorcio microbiano para su inserción en diferentes vías como la formación de metanol, etanol, metilaminas, formiato y propionato. Aun cuando se ha demostrado que la metanogénesis es el principal sumidero de H_2 a nivel *in vitro*, las investigaciones no son concluyentes a nivel *in vivo* (Ungerfeld, 2020).

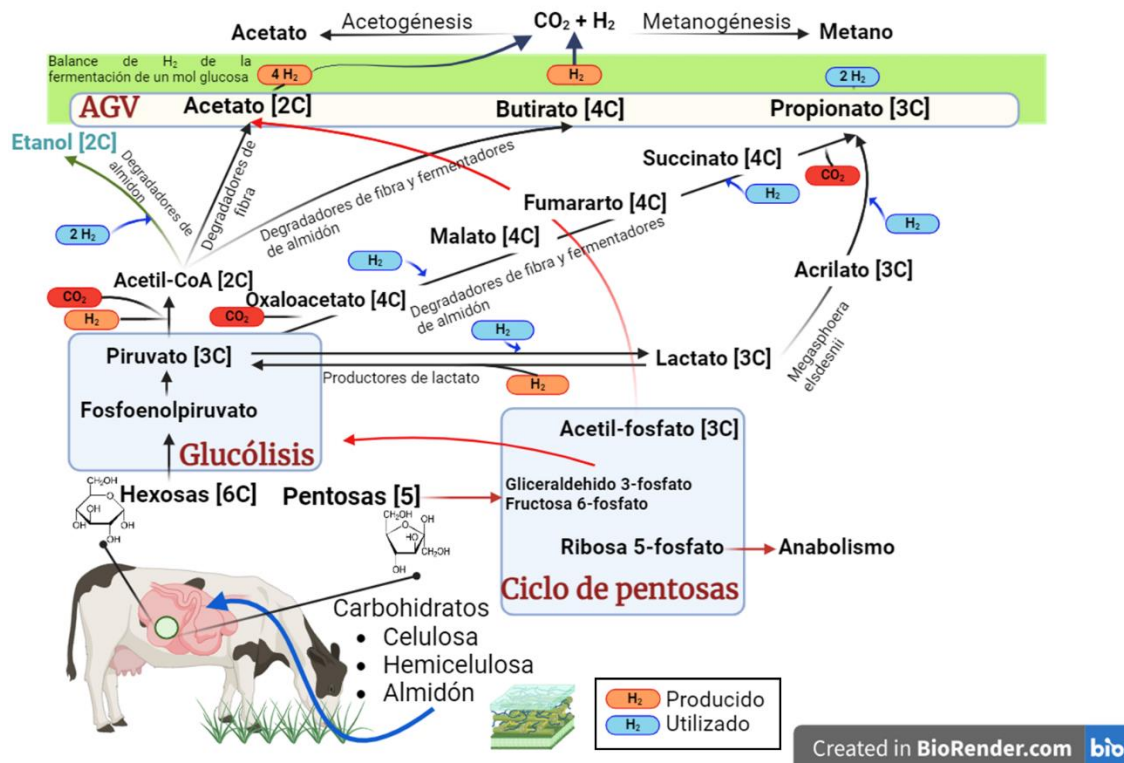


Figura 1. Fermentación de carbohidratos y flujo de electrones
(Adaptado de Li et al., 2022; Ramírez-Briebesca, 2018; Ungerfeld, 2020).

2.4 Metanogénesis

El proceso de metanogénesis es una forma de respiración anaeróbica, común en lugares donde los aceptores de electrones como O₂, NO₃⁻, Fe³⁺, y SO₄²⁻, son escasos; en este proceso se utiliza el CO₂ como aceptor de electrones terminal, para la formación de CH₄ (Lyu et al., 2018).

2.4.1 Metanógenos ruminales

Los metanógenos pertenecen al dominio *Archaea*, son microorganismos anaerobios estrictos y no son exclusivos del rumen; se encuentran en lugares hidrotermales como lagos, vertederos y el tracto digestivo de muchos animales, incluido el humano e insectos. Dentro del rumen representan aproximadamente 1 % de la población microbiana total (Cersosimo & Wright, 2015).

Janssen y Kirs (2008) reportan que los miembros del dominio *Archaea* representan aproximadamente 0.3 al 3.3 % del ARNr de la subunidad microbiana (16S y 18S) en el rumen; las cuales son metanógenos estrictamente anaeróbicos que se han clasificado en tres géneros, los cuales son *Methanobrevibacter* (61.6 %), *Methanomicrobium* (14.9 %) y un gran grupo de arqueas ruminales no cultivadas denominadas grupo ruminal C o RCC (15.8 %), a su vez se han dividido en 11 clados de los cuales nueve están compuestos por metanógenos que utilizan hidrógeno.

La presencia de diferentes géneros de metanógenos ha sido asociada con animales altos o bajos productores de metano; Danielsson et al. (2017) reportaron abundancias altas de *Methanomassiliicoccaceae* en animales bajos productores de metano, mientras *Methanobrevibacter* y *Methanosphaera* no tuvieron diferencias entre ambos grupos; sin embargo, se encontró que animales altos productores, presentan 1.5 veces más abundancia de *Methanobrevibacter gottschalkii* y 1.3 veces menos abundancia de *Methanobrevibacter ruminantium*.

A pesar de lo anterior, en un análisis de Tapio et al. (2017) observaron correlación entre la población de *Archaeas* y la producción de metano ruminal es baja. Ya que, aunque la expresión de genes asociados a la metanogénesis es un buen indicador en sistemas como el suelo, en sistemas abiertos como el rumen se complica la correlación. Pereira et al. (2022) reportaron que ovejas con baja producción de metano se asocian con altas concentraciones de genes de L-lactato deshidrogenasa.

2.4.2 Vías metanogénicas a nivel ruminal

Janssen (2010) menciona que la formación de metano en el rumen se puede explicar por dos mecanismos: la cinética de crecimiento de los metanógenos, los cuales determinan la concentración de H₂ y la termodinámica de la fermentación ruminal, que es influenciada por las concentraciones de H₂. El mismo autor menciona que la producción de metano por unidad de alimento digerido depende de la cantidad de H₂ formada, pero al existir diferentes vías de fermentación de glucosa las

cuales producen diferentes cantidades de H₂, la estequiometría de la formación de metano es variable (Figura 2). Pereira et al. (2022) mencionan que existen tres vías metanogénicas a nivel ruminal: hidrogenotrófica, acetoclástica y metilotrófica. Las cuales se describen en el Cuadro 1.

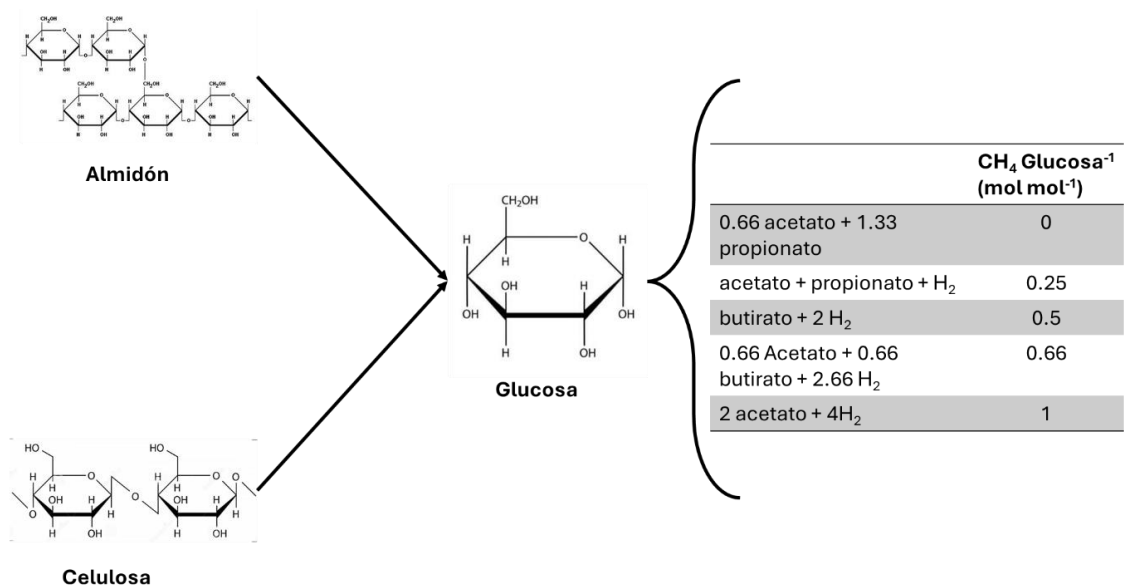


Figura 2. Posibles rutas metabólicas ruminales de la glucosa e interrelacionadas en los moles producidos de metano a partir de un mol de glucosa. Adaptado de Janssen (2010).

Cuadro 1. Vías metanogénicas en el rumen.

Vía	Ecuación	ΔG (kJ mol ⁻¹ CH ₄)	Metanógenos	Observaciones
Hidrogenotrófica	$4H_2 + CO_2 \rightarrow CH_4 + 2H_2O$	-135	<i>Methanobrevibacter.</i> <i>Mbb. Gottschalkii.</i> <i>Mbb. Ruminantium.</i>	Es la vía más frecuente.
	$4HCOOH \rightarrow CH_4 + 3CO_2 + 2H_2O$	-130		
Acetoclástica	$CH_3COOH \rightarrow CH_4 + CO_2$	- 33	<i>Methanosarcina.</i> <i>Methanosaeta.</i>	Vía no tan frecuente. La tasa de paso del rumen es demasiado alta, para permitir el establecimiento de metanógenos acetoclásticos.
Metilotrófica	$4CH_3OH \rightarrow 3CH_4 + CO_2 + 2H_2O$	-105	<i>Methanosarcina</i> y otros metilótrofos.	Significativa en terneros y baja en animales adultos.
	$4CH_3 - NH_2 + 2H_2O \rightarrow 3CH_4 + CO_2 + 4NH_3$	-75		
	$2(CH_3)_2 - NH + 2H_2O \rightarrow 3CH_4 + CO_2 + 2NH_3$	-73		
	$4(CH_3)_3 - N + 6H_2O \rightarrow 9CH_4 + 3CO_2 + 4NH_3$			

Adaptado de Pereira et al. (2022) y Ramírez-Bribiesca, 2018

2.4.3 Estrategias de mitigación de emisión de metano entérico

La integración de técnicas al estudio de la fermentación ruminal como la genómica y transcriptómica han demostrado que existen más vías para la eliminación de los H_2 , como lo son la reducción de nitratos, sulfatos y fumaratos; además de la homoacetogénesis. Sin embargo, estos sustratos no son comunes en las dietas de rumiantes, por lo que estas vías no son significativas, además algunos productos finales son tóxicos (Leahy et al., 2022). Por estas razones es fundamental conocer el flujo de electrones para proponer alternativas de mitigación de emisión de metano entérico, sin afectar la eficiencia del huésped.

La metil-coenzima M reductasa, cataliza el paso final de la metanogénesis en la mayoría de las vías (Pereira et al. 2022). El 3-nitrooxipropanol (3-NOP) es una molécula similar a la metil-coenzima M, que se dirige al sitio activo MCR inhibiendo el paso final de la formación de metano (Duin et al., 2016), a nivel *in vivo* redujo un 30.63 % la producción de metano en terneros (Kirwan et al., 2024) y 26.76 % en hembras Holstein (Melgar et al., 2021) con una dosis de 150 y 60 mg kg MS^{-1} , respectivamente. En ambos trabajos las dietas tuvieron una relación forraje:concentrado cercana a 1:1 de otro compuesto con efecto antimicrobiano es la lovastatina, la cual en forma activa es un inhibidor competitivo de la enzima HMG-CoA reductasa, en dosis de 300 mg L^{-1} , produjo una reducción de 43.6 % del metano producido *in vitro* sin afectar la producción de gas y el perfil de AGV (Abrego-García et al., 2022).

Actualmente se han realizado esfuerzos para incluir la producción de metano en programas de mejoramiento genético; sin embargo, se requiere que las características de emisión de metano sean adecuadamente heredables, demostrar alta variación genética y comprender las asociaciones genéticas con otros rasgos de interés (Hosseini-Zadeh, 2022). Pszczola et al. (2017) encontraron que el nivel de heredabilidad de emisión de metano fluctuó a lo largo de la lactancia, comenzando en 0.23 y alcanzando su punto más alto 0.30 a los 212 días en leche, teniendo un promedio de 0.27. Además, se encontraron correlaciones genéticas positivas con producción de leche y grasa láctea

(Hosseini-Zadeh, 2022). Black et al. (2021) mencionan que el potencial de mejora genética para este rasgo está limitado en un rango de 0.2 a 0.4 % por año, por lo que la reducción acumulada en 20 años sería del 4 al 8 % en bovinos y ovinos.

Los extractos de plantas han demostrado tener efecto en la fermentación ruminal, principalmente los aceites esenciales y compuestos fenólicos, los cuales están formados por terpenos, saponinas, taninos, flavonoides, ácidos orgánicos, carbohidratos complejos y aminoácidos no proteínicos, los cuales presentan actividad antimicrobiana (Reddy et al., 2020). Un metaanálisis realizado en estudios *in vivo*, Permata et al. (2023) encontraron una disminución de la producción de metano entérico, lo cual podría explicarse por la presencia de compuestos fenólicos que protegen la proteína del alimento de la degradación ruminal, lo cual reduce la disponibilidad de nutrientes para la proliferación bacteriana, esto se ve reflejado también en la disminución de amoníaco ruminal encontrado.

2.5 Residuo de café gastado (RCG)

El RCG es un subproducto sin valor económico que generalmente es desechado; sin embargo, es rico en fibra y antioxidantes entre los que destacan polifenoles, y cafeína además de proteína, almidón y aceites (Giroto et al., 2017). El Cuadro 2 presenta valores de composición química reportados en los últimos cinco años, donde se destaca su alto contenido de FDN (68.44 %) y FDA (46.92 %); la proteína cruda (13.78 %) fue uno de los nutrientes menos variable con una desviación estándar de 1.56; aun cuando es poca la información sobre lignina, la cantidad es considerable (20 %) y es una limitante en la alimentación animal.

Cuadro 2. Composición química^z del residuo de café gastado (%).

	San Martin et al., 2023		Carta et al., 2022	San Martín et al., 2023	de Otálora et al., 2020	Choi et al., 2018	$\bar{X}$	σ
PC	15.00	15.40	15.03	12.49	12.50	12.00	13.74	1.56
FDN	61.60	68.00	55.48	72.94	73.00	79.60	68.44	8.72
FDA	40.60	37.80	33.15	47.98	48.00	74.00	46.92	14.48
CEN	2.70	1.69	91.35	1.48	1.50	0.40	16.52	36.67
LDA	15.90	16.50	-	27.83	-	-	20.08	6.72
CHO'S	0.94	-	-	0.20	-	-	0.57	0.52

^z PC: proteína cruda; FDN: fibra detergente neutro; FDA: fibra detergente ácido; CEN: Cenizas; LDA: lignina detergente ácido; CHO'S: azúcares; $\bar{X}$: promedio; DE: desviación estándar.

En producción animal se han realizado pruebas de suplementación con RCG en rumiantes. Carta et al. (2022) analizaron la suplementación de 50 y 100 g de RCG en cabras productoras de leche, encontrando mejoría en la capacidad antioxidante de la sangre y aumentando linealmente la cantidad de plaquetas totales; los parámetros hematológicos estuvieron dentro del rango fisiológico. Estos mismos autores reportaron que la inclusión de RCG no afecta la producción de leche de cabras. Sin embargo, de Otálora et al. (2020) encontraron un aumento cuadrático por la inclusión de RCG en la producción de leche de ovejas.

El RCG ha tenido efecto como modificador de la fermentación ruminal. De Otálora et al. (2020) reportaron un incremento lineal en la producción de acetato y butirato, acompañado de una reducción lineal de propionato. Estos datos no coinciden con lo reportado por Batbekh et al. (2023), quienes en un estudio *in vitro* no encontraron diferencia en la producción de acetato y butirato; sin embargo, el propiónico aumentó, alcanzando su máximo con la adición de 20 % de RCG. Estos mismos autores reportan un aumento en la producción de gas con 20 % de RCG, pero sin diferencias en la cantidad de CH₄ y CO₂ producido.

La digestibilidad de la materia seca no fue modificada por la inclusión de hasta 20 % de RCG en ovinos (de Otálora et al., 2020; Choi et al., 2018).

Efectos negativos se han reportado por Choi et al. (2018) quienes observaron que el aumento de RCG fermentado en la dieta provocó una reducción lineal de la ganancia de peso, además, de un aumento del consumo de agua y excreción de orina. El suministro de 10 % de RCG en la dieta mostró 9.7 puntos porcentuales menos de digestibilidad de la PC con respecto al control, lo cual se vio reflejado en 40 % menos nitrógeno retenido.

2.6 Efecto de los fenoles en la producción animal

Huang et al. (2023) evaluaron diferentes dosis y tipos de fenoles a nivel *in vitro* y demostraron que estos no afectaron la fermentación ruminal; en un segundo experimento combinaron con antimetanológicos, dando como resultado una inhibición media, pero no mostraron efectos como aceptores de H₂. Contrario a estos reportes, Giridhar et al. (2018) encontraron correlaciones negativas de la cantidad de fenoles totales con digestibilidad *in vitro* de la materia orgánica (-0.64), volumen de producción de gas de a las 24 h (-0.67) y 96 h (-0.413); sin embargo, valores positivos fueron encontrados para producción rápida de gas (0.752).

Jin et al. (2020) encontraron que la adición de ácido cafeico (hasta 40 mg kg MS⁻¹) funciona como modulador ruminal, al reducir lineal de la producción de CH₄ en la fermentación de dietas altas en forraje y con dietas altas en concentrado, se mejoró la degradación de la MS pero aumentó la metanogénesis.

2.7 Cafeína

La cafeína es uno de los metabolitos secundarios más conocido en las plantas, se puede encontrar en diferentes estructuras vegetales, en tejidos blandos tiene una función de protección contra la infección por patógenos (hongos y bacterias), cuando está presente en la cubierta de semillas se libera en el suelo para inhibir la germinación de otras semillas (Zhou et al., 2020). Ashihara y Crozier (2001)

mencionan que la mayoría de las especies cultivadas de Café Arábica y Robusta contiene en el grano 1.0 y 1.7 % de cafeína, respectivamente.

La cafeína es un alcaloide de purina que se almacena en las vacuolas junto con otros metabolitos secundarios (Ashihara et al., 2011). Waldhauser y Baumann (1996) reportan una relación positiva entre la cantidad de cafeína y ácido clorogénico; además, mencionan la formación de un complejo en medios acuosos de 5 ácido cafeoilquínico y cafeína, los cuales pueden ser el precursor de cafeína cristalina-clorogenato de potasio.

Se ha reportado que bacterias del género *Pseudomonas* tienen capacidad de degradación de cafeína, esta cepa es la más estudiada; sin embargo, existen aproximadamente 71 cepas bacterianas pueden degradar la cafeína, las vías metabólicas utilizadas son la desmetilación N-terminal y la oxidación C-terminal (Zhao et al., 2023).

2.8 Literatura citada

- Ábrego-García, A., Poggi-Varaldo, H. M., Robles-González, V. S., Ríos-Leal, E., Ponce-Noyola, T., Calva-Calva, G., Estrada-Bárceñas, D. A., & Mendoza-Vargas, A. (2022). Inhibición *in vitro* de la metanogénesis ruminal de una dieta alta en grano con lovastatina. *Revista Internacional de Contaminación Ambiental*, 38, 501-520. <https://doi.org/10.20937/rica.54342>
- Ashihara, H., & Crozier, A. (2001). Caffeine: a well known but little mentioned compound in plant science. *Trends in Plant Science*, 6(9). 407-413. [https://doi.org/10.1016/s1360-1385\(01\)02055-6](https://doi.org/10.1016/s1360-1385(01)02055-6)
- Ashihara, H., Crozier, A., & Komamine, A. (2011). Plant Metabolism and Biotechnology. En Wiley eBooks. <https://doi.org/10.1002/9781119991311>
- Batbekh, B., Ahmed, E., Hanada, M., Fukuma, N., & Nishida, T. (2023). Assessment of the impact of coffee waste as an alternative feed supplementation on rumen fermentation and methane emissions in an *in vitro* study. *Fermentation*, 9(9), 858. <https://doi.org/10.3390/fermentation9090858>
- Black, J. L., Davison, T. M., & Box, I. (2021). Methane Emissions from Ruminants in Australia: Mitigation Potential and Applicability of Mitigation Strategies. *Animals*, 11(4), 951. <https://doi.org/10.3390/ani11040951>

- Calvin, K., Dasgupta, D., Krinner, G., Mukherji, A., Thorne, P., Trisos, C. H., Romero, J., Aldunce, P., Barrett, K., Blanco, G., Cheung, W. W. L., Connors, S., Denton, F., Diongue-Niang, A., Dodman, D., Garschagen, M., Geden, O., Hayward, B., Jones, C. D., . . . Ha, M. (2023). IPCC, 2023: Climate Change 2023: Synthesis Report. Contribution of Working Groups I, II and III to the Sixth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change [Core Writing Team, H. Lee and J. Romero (eds.)]. *IPCC, Geneva, Switzerland*. <https://doi.org/10.59327/ipcc/ar6-9789291691647>
- Carta, S., Tsiplakou, E., Nicolussi, P., Pulina, G., & Nudda, A. (2022). Effects of spent coffee grounds on production traits, haematological parameters, and antioxidant activity of blood and milk in dairy goats. *Animal*, *16*(4), 100501. <https://doi.org/10.1016/j.animal.2022.100501>
- Cersosimo, L. M., & Wright, A. G. (2015). Rumen methanogens. Springer eBooks (pp. 143-150). https://doi.org/10.1007/978-81-322-2401-3_10
- Choi, Y., Rim, J., Na, Y., & Lee, S. (2018). Effects of dietary fermented spent coffee ground on nutrient digestibility and nitrogen utilization in sheep. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, *31*(3), 363-368. <https://doi.org/10.5713/ajas.17.0654>
- Danielsson, R., Dicksved, J., Sun, L., Gonda, H. L., Müller, B., Schnürer, A., & Bertilsson, J. (2017). Methane Production in Dairy Cows Correlates with Rumen Methanogenic and Bacterial Community Structure. *Frontiers In Microbiology*, *8*. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.00226>
- De Otálora, X. D., Ruíz, R., Goiri, I., Rey, J., Atxaerandio, R., Martín, D. S., Orive, M., Iñarra, B., Zufía, J., Urkiza, J., & García-Rodríguez, A. (2020). valorisation of spent coffee grounds as functional feed ingredient improves productive performance of Latxa dairy ewes. *Animal Feed Science and Technology*, *264*, 114461. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2020.114461>
- Duin, E. C., T. Wagner, S. Shima, D. Prakash, B. Cronin, D. R. Yáñez-Ruiz, S. Duval, R. Rumbeli, R. T. Stemmler, R. K. Thauer, et al. (2016). Mode of action uncovered for the specific reduction of methane emissions from ruminants by the small molecule 3-nitrooxypropanol. *Proceedings of the National Academy Sciences USA*, *113*, 6172–6177. doi:10.1073/pnas.1600298113
- Giroto, F., Pivato, A., Cossu, R., Nkeng, G. E., & Lavagnolo, M. C. (2017). The broad spectrum of possibilities for spent coffee grounds valorisation. *Journal of Material Cycles and Waste Management*, *20*(1), 695-701. <https://doi.org/10.1007/s10163-017-0621-5>
- Giridhar, K. S., Prabhu, T. M., Singh, K., Nagabhushan, V., Thirumalesh, T., Rajeshwari, Y. B., & Umashankar, B. (2018). Nutritional potentialities of some tree leaves based on polyphenols and rumen *In vitro* gas production.

- Hosseini-Zadeh, N. G. (2022). Estimates of the genetic contribution to methane emission in dairy cows: a meta-analysis. *Scientific Reports*, 12(1). <https://doi.org/10.1038/s41598-022-16778-z>
- Huang, R., Romero, P., Belanche, A., Ungerfeld, E. M., Yáñez-Ruiz, D. R., Morgavi, D., & Popova, M. (2023). Evaluating the effect of phenolic compounds as hydrogen acceptors when ruminal methanogenesis is inhibited *in vitro* – Part 1. Dairy cows. *Animal*, 17(5), 100788. <https://doi.org/10.1016/j.animal.2023.100788>
- Instituto Nacional de Ecología y Cambio Climático, INECC. (2015). Inventario Nacional de emisiones de gases y compuestos de efecto invernadero. gob.mx. <https://www.gob.mx/inecc/acciones-y-programas/inventario-nacional-de-emisiones-de-gases-y-compuestos-de-efecto-invernadero>
- Intergovernmental Panel on Climate Change (IPCC). (2022). Strengthening and Implementing the Global Response. In Global Warming of 1.5°C: IPCC Special Report on Impacts of Global Warming of 1.5°C above Pre-industrial Levels in Context of Strengthening Response to Climate Change, Sustainable Development, and Efforts to Eradicate Poverty Cambridge: *Cambridge University Press*. 313-444. doi:10.1017/9781009157940.006
- Janssen, P. H., & Kirs, M. (2008). Structure of the Archaeal Community of the Rumen. *Applied and Environmental Microbiology*, 74(12), 3619-3625. <https://doi.org/10.1128/aem.02812-07>
- Janssen, P. H. (2010). Influence of hydrogen on rumen methane formation and fermentation balances through microbial growth kinetics and fermentation thermodynamics. *Animal Feed Science and Technology*, 160(1-2), 1-22. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2010.07.002>
- Jin, Q., Wang, Y., Tan, X., Liu, G., Zhang, X., Liu, X., Wan, F., & Chen, W. (2020). Caffeic acid modulates methane production and rumen fermentation in an opposite way with high-forage or high-concentrate substrate *in vitro*. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 101(7), 3013-3020. <https://doi.org/10.1002/jsfa.10935>
- Kirwan, S. F., Tamassia, L. F. M., Walker, N., Karagiannis, A., Kindermann, M., & Waters, S. M. (2023). Effects of dietary supplementation with 3-nitrooxypropanol on enteric methane production, rumen fermentation, and performance in young growing beef cattle offered a 50:50 forage: concentrate diet. *Journal of Animal Science*, 102. <https://doi.org/10.1093/jas/skad399>
- Leahy, S. C., Janssen, P. H., Attwood, G. T., Mackie, R. I., McAllister, T. A., & Kelly, W. J. (2022). Electron flow: key to mitigating ruminant methanogenesis. *Trends in Microbiology*, 30(3), 209-212. <https://doi.org/10.1016/j.tim.2021.12.005>

- Li, Q. S., Wang, R., Ma, Z., Zhang, X. M., Jiao, J. Z., Zhang, Z. G., Ungerfeld, E. M., Yi, K. L., Zhang, B. Z., Liang, L., Long, Y., Tao, Y., Huang, T., Greening, C., Tan, Z. L., & Wang, M. (2022). Dietary selection of metabolically distinct microorganisms drives hydrogen metabolism in ruminants. *The ISME Journal*, 16(11), 2535-2546. <https://doi.org/10.1038/s41396-022-01294-9>
- Lyu, Z., Shao, N., Akinyemi, T. S., & Whitman, W. B. (2018). Methanogenesis. *Current Biology*, 28(13), R727-R732. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2018.05.021>
- Melgar, A., De Assis Lage, C. F., Nedelkov, K., Räisänen, S., Stefenoni, H., Fetter, M. E., Chen, X., Oh, J., Duval, S., Kindermann, M., Walker, N., & Hristov, A. (2021). Enteric methane emission, milk production, and composition of dairy cows fed 3-nitrooxypropanol. *Journal of Dairy Science*, 104(1), 357-366. <https://doi.org/10.3168/jds.2020-18908>
- Membrive, C. M. B. (2016). Anatomy and physiology of the Rumen. *En Springer eBooks* (pp. 1-38). https://doi.org/10.1007/978-3-319-30533-2_1
- Myers, S. S., Zanobetti, A., Kloog, I., Huybers, P., Leakey, A. D. B., Bloom, A. J., Carlisle, E., Dietterich, L. H., Fitzgerald, G. J., Hasegawa, T., Holbrook, N. M., Nelson, R. L., Ottman, M. J., Raboy, V., Sakai, H., Sartor, K., Schwartz, J., Seneweera, S., Tausz, M., & Usui, Y. (2014). Increasing CO₂ threatens human nutrition. *Nature*, 510(7503), 139-142. <https://doi.org/10.1038/nature13179>
- Nagaraja, T. G. (2016). Microbiology of the Rumen. *En Springer eBooks* (pp. 39-61). https://doi.org/10.1007/978-3-319-30533-2_2
- Palangi, V., Taghizadeh, A., Abachi, S., & Lackner, M. (2022). Strategies to Mitigate enteric methane emissions in ruminants: A review. *Sustainability*, 14(20), 13229. <https://doi.org/10.3390/su142013229>
- Pereira, A. M., De Lurdes Enes Dapkevicius, M., & De Borba, A. E. S. (2022). Alternative pathways for hydrogen sink originated from the ruminal fermentation of carbohydrates: Which microorganisms are involved in lowering methane emission? *Animal Microbiome*, 4(1). <https://doi.org/10.1186/s42523-021-00153-w>
- Permata, D., Wiryawan, K. G., & Jayanegara, A. (2024). Evaluation of essential oil supplementation as a feed additive on rumen fermentation characteristics and methane mitigation in ruminants: A meta-analysis. *Veterinary Integrative Sciences*, 22(2), 463-473. <https://doi.org/10.12982/vis.2024.032black>
- Pszczola, M., Rzewuska, K., Mucha, S., & Strabel, T. (2017). Heritability of methane emissions from dairy cows over a lactation measured on commercial farms¹. *Journal of Animal Science*, 95(11), 4813-4819. <https://doi.org/10.2527/jas2017.1842>
- Ramírez-Briebesca, J.E. (2018). Eventos químicos-fisiológicos del metano en los rumiantes. *Agroproductividad*. 11(2). 22-33.

- Reddy, PRK, Hyder, I. (2023). Digestión de rumiantes. En: Das, PK, Sejian, V., Mukherjee, J., Banerjee, D. (eds) Libro de texto de fisiología veterinaria. *Springer*, Singapur. https://doi.org/10.1007/978-981-19-9410-4_14
- San Martín, D., Ibarruri, J., Luengo, N., Ferrer, J. L. R., García-Rodríguez, A., Goiri, I., Atxaerandio, R., Medjadbi, M., Zufía, J., De Cámara, E. S., & Iñarra, B. (2023). Evaluation of Valorisation Strategies to Improve Spent Coffee Grounds' Nutritional Value as an Ingredient for Ruminants' Diets. *Animals*, 13(9), 1477. <https://doi.org/10.3390/ani13091477>
- Scarpelli, T. R., Jacob, D. J., Villasana, C. A. O., Hernández, I. F. R., Moreno, P. R. C., Alfaro, E. A. C., Del Mar Román García, M., & Zavala-Araiza, D. (2020). A gridded inventory of anthropogenic methane emissions from Mexico based on Mexico's National Inventory of Greenhouse Gases and Compounds. *Environmental Research Letters*, 15(10), 105015. <https://doi.org/10.1088/1748-9326/abb42b>
- Ungerfeld, E. M. (2020). Metabolic hydrogen flows in Rumen fermentation: principles and possibilities of interventions. *Frontiers in Microbiology*, 11. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.00589>
- Tapio, I., Snelling, T. J., Strozzi, F., & Wallace, R. J. (2017). The ruminal microbiome associated with methane emissions from ruminant livestock. *Journal of Animal Science and Biotechnology*, 8(1). <https://doi.org/10.1186/s40104-017-0141-0>
- Waldhauser, S. S. M., & Baumann, T. W. (1996). Compartmentation of caffeine and related purine alkaloids depends exclusively on the physical chemistry of their vacuolar complex formation with chlorogenic acids. *Phytochemistry*, 42(4), 985-996. [https://doi.org/10.1016/0031-9422\(96\)00072-6](https://doi.org/10.1016/0031-9422(96)00072-6)
- Yan, X., Ying, Y., Li, K., Zhang, Q., & Wang, K. (2024). A review of mitigation technologies and management strategies for greenhouse gas and air pollutant emissions in livestock production. *Journal of Environmental Management*, 352, 120028. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2024.120028>
- Zhao, L., Wei, J., Hu, Y., Pi, D., Jiang, M., & Lang, T. (2023). Caffeine synthesis and its mechanism and application by microbial degradation, a review. *Foods*, 12(14), 2721. <https://doi.org/10.3390/foods12142721>
- Zhou, M., Chang-Yu, Y., Zeng, Z., Luo, L., Zeng, W., & Huang, Y. (2020). N-Methyltransferases of caffeine biosynthetic pathway in plants. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 68(52), 15359-15372. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.0c0616>

3. INCLUSIÓN DEL SUBPRODUCTO DE CAFÉ SOBRE LA FERMENTACIÓN RUMINAL Y METANO *IN VITRO* EN DIETAS PARA OVINOS

**Mireles-Martínez Carlos Enrique¹, Vallejo-Hernández Laura Haydée¹,
Miranda-Romero Luis Alberto¹, Ramírez-Bribiesca Jacinto Efrén², Márquez-
Mota Claudia Cecilia**

Posgrado en Producción Animal, Universidad Autónoma Chapingo,
Departamento de Enseñanza, Investigación y Servicio en Zootecnia, CP 56230,
Texcoco, Estado de México.

² Departamento de Ganadería, Posgrado en Recursos Genéticos y
Productividad, Colegio de posgraduados campus Montecillos, Texcoco, Estado
de México.

³ Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Departamento de Nutrición
animal y Bioquímica, Universidad Nacional Autónoma de México, Ciudad de
México, México.

3.1 Resumen

El café gastado (RCG) es el principal subproducto de la industria del café y es una fuente potencial de compuestos bioactivos (polifenoles). Por su bajo costo es atractivo para su integración en dietas para rumiantes. Con el objetivo de determinar el efecto de la integración de RCG en dietas de ovejas en mantenimiento, se realizó un experimento factorial (3x2), donde la integración del café fungió como el factor uno (0, 5 y 10 %) y la adaptación del inóculo como el factor dos (adaptado y no adaptado). A través de producción de gas *in vitro*, se encontró una reducción lineal ($p=0.006$) de la producción de metano (mL g^{-1} MS) a las 24 h por la adición de café en inóculos no adaptados. La producción de CO_2 no presentó diferencias entre tratamientos; la digestibilidad *in vitro* de la materia seca fue afectada ($p<0.01$) por la adición del café y por el tipo de inóculo ($p<0.01$). El volumen de producción de gas total a las 72 h, y la fracción de fermentación total, rápida, media y lenta fueron mayores para la integración de 5 % de café en inóculo adaptado ($p<0.01$). Se concluyó que el RCG reduce la producción de metano ruminal cuando no ha habido adaptación de los consorcios microbianos,

pero este efecto se pierde después de la adaptación; sin embargo, la inclusión de 5 % de RCG mejora las fracciones de fermentación del alimento.

Palabras clave: café, metano, rumiantes.

Tesis de Maestría en Ciencias en innovación Ganadera, Posgrado en Producción Animal,
Universidad Autónoma Chapingo
Autor: Carlos Enrique Mireles Martínez
Director de Tesis: Laura Haydée Vallejo Hernández

3.2 Abstract

Coffee waste (CW) is the coffee industry's main by-product and a potential source of bioactive compounds (polyphenols). Due to its low cost, it is attractive for integration into diets for ruminants. A factorial experiment (3x2) was carried out to determine the effect of the integration of CW in diets of maintenance ewe, where the integration of coffee served as factor one (0, 5, and 10 %) and the adaptation of inoculum as factor two (adapted and non-adapted). Through *in vitro* gas production, a linear reduction ($p=0.006$) of methane production ($\text{mL g}^{-1}\text{MS}$) was found at 24 h due to the addition of CW in non-adapted inoculums. The CO_2 production did not present differences between treatments; the *in vitro* digestibility of dry matter was affected ($p<0.01$) by the addition of CW and by the type of inoculum ($p<0.01$). The volume of total gas production at 72 h and the fraction of total, fast, medium, and slow fermentation were greater for the integration of 5 % CW in adapted inoculum ($p<0.01$). In conclusion, CW reduces ruminal methane production when there has been no adaptation of the microbial consortia, but this effect is lost after adaptation. However, the inclusion of 5 % CW improves the fermentation fractions of the feed.

Keywords: Coffee, methane, ruminants

Master Thesis in Livestock Innovation, Graduate Program in Animal Production, Universidad Autónoma Chapingo
Author: Carlos Enrique Mireles Martínez
Advisor: Laura Haydée Vallejo Hernández

3.3 Introducción

A nivel mundial el café es el segundo producto de mayor comercialización después del petróleo, generando grandes volúmenes de subproductos que causan problemas ambientales (Nabais et al., 2008). Mussatto et al. (2011) mencionan que procesar una tonelada de café verde produce 650 kg RCG, lo que lo convierte en el mayor subproducto del procesamiento de café. Este subproducto contiene 80 % de fibra total y es una fuente importante de compuestos bioactivos (Giroto et al., 2017). Bravo et al. (2012) encontraron que los ácidos cafeoilquínicos son los compuestos fenólicos más abundantes en el residuo de café gastado; además, presentan cafeína y melanoidinas los cuales se han asociado en la prevención de enfermedades cardiovasculares, neurodegenerativas y anticancerígenas.

Los compuestos fenólicos han mostrado ser moduladores de la fermentación ruminal; el suplemento de 40 g kg MS⁻¹ redujo la producción de metano a nivel *in vitro* (Jin et al., 2020). Otros ejemplos de compuestos fenólicos son los flavonoides y taninos. Dhanasekaran et al. (2019) mencionan que los taninos tienen un rango de reducción de metano de 2 a 58 %. Lo anterior lo hace ser una alternativa para reducir la producción de metano entérico. El objetivo de este estudio fue evaluar la inclusión de residuo de café gastado (RCG) en la dieta de ovejas, para determinar su posible utilización como inhibidor de la producción de metano entérico.

3.4 Materiales y métodos

3.4.1 Material experimental

El RCG fue recolectado en la Universidad Autónoma Chapingo, procedente de oficinas y cafeterías. Posterior a su recolección se secó a 55 °C durante seis horas para evitar el deterioro microbiano.

3.4.2 Animales y dietas experimentales

El experimento se realizó en la Granja Experimental, del Departamento de Zootecnia de la Universidad Autónoma Chapingo, ubicado en Texcoco de Mora, Estado de México. Se utilizaron 15 ovejas de raza Criolla. Previo al experimento se aplicó un antiparasitario (Closantil® al 5 %) y vitamina ADE (Vigantol®). Las ovejas se alojaron en corrales individuales (2 x 0.5 m), donde fueron adaptadas por 7 d para posteriormente ser aleatorizadas y bloqueadas por peso corporal (25 ± 2 y 30 ± 3 Kg) a los tratamientos. Los animales cumplieron con las Normas de Ética y Bienestar Animal indicadas en las Normas del COBIAN COLPOS (COBIAN-COLPOS, 2023).

Las dietas experimentales fueron isoproteicas con 13.5 % PC e isoenergéticas a 2.2 Mcal EM kg⁻¹; a la dieta control no se le adicionó RCG (T0), los otros tratamientos fueron la inclusión de 5 y 10 % de RCG, respectivamente. El alimento fue restringido al 90 % del consumo, se suministró a las 0750 y 1650 h, con agua a libre acceso.

3.4.3 Cinética de la producción de gas de fermentación, degradabilidad de la materia seca y fracciones fermentables *in vitro*

La técnica de producción de gas *in vitro* (Menke & Steingass, 1988; Theodorou et al., 1994) fue usada para hacer la medición indirecta de la fermentación ruminal. Se utilizaron viales de vidrio de 125 mL de color ámbar, con 500 mg de MS de la dieta a evaluar; 90 mL de inóculo y flujo constante de CO₂, fueron cerrados herméticamente con tapones de goma y sellados con arillos de aluminio, la incubación se realizó en baño maría a 39 °C. La presión generada se midió con un manómetro (METRON®, 51100) a las 0, 2, 4, 6, 8, 12, 16, 20, 24, 30, 36, 42, 48, 60 y 72 h de incubación. La fermentación se repitió en el tiempo para el día 23 y 30 del experimento. En cada periodo de fermentación se usaron tres viales por tratamiento y tres viales blancos, los cuales fueron usados como ajuste por contaminación.

El líquido ruminal se obtuvo de dos ovejas de cada tratamiento. Su obtención se realizó a través de sonda ruminal, posteriormente se filtró a través de cuatro gasas, colocándose en un termo de plástico (Colleman®), manteniéndolo a una temperatura constante de 39 °C y se llevó al Laboratorio de Microbiología Pecuaria, de la Universidad Autónoma Chapingo. El líquido fue filtrado nuevamente a través de ocho capas de gasa, diluido 1:9 (v:v) en una solución mineral (Cuadro 1), solución reducida (Cuadro 2) y en atmósfera de dióxido de carbono.

El volumen de gas acumulado en función del tiempo fue usado para calcular las siguientes variables de la cinética de producción de gas: volumen máximo (Vm; mL g⁻¹ MS), tasa de fermentación (s; mL h⁻¹) y fase LAG (L; h) de la producción de gas:

$$Vo = \frac{Vm}{[1 + e^{(2-4k(t-L))}]}$$

Ecuación 1 Basado en el modelo logístico de Schofield et al., (1994).

Donde:

Vo: volumen de gas

Vm: volumen máximo

K: tasa constante

L: constante de integración correspondiente a la fase LAG

T: Tiempo

La degradación *in vitro* de la materia seca (DIVMS72) se determinó por diferencia de la MS inicial colocada en cada frasco y la MS residual después del tiempo de incubación, estimada mediante filtración en papel filtro previamente pesado y con la siguiente fórmula:

$$DIVMS72 = \frac{MS\ inicial - MS\ terminal}{MS\ inicial} * 100$$

Las fracciones de fermentación fueron calculadas con los datos acumulados de producción de gas durante 72 h de incubación a 39 °C. Las fracciones de rápida, media y lenta fermentación se estimaron con el volumen de gas acumulado en los intervalos de tiempo de 0-8, 8-24 y 24-72 h, respectivamente, con las ecuaciones de regresión para cada fracción de fermentación (Miranda et al., 2020).

Simultáneamente a la cinética fermentación ruminal se realizó otra fermentación para estimar indicadores de impacto ambiental. Se uso el mismo procedimiento con las siguientes mediciones: 0, 6, 12, 18 y 24 h. El cálculo se hizo con la captura del gas total usando una jeringa de vidrio de 50 mL. La muestra se transfirió a un vial de 60 mL que contenía 40 mL de una solución de hidróxido de potasio (1 N), con el propósito de capturar el dióxido de carbono presente en la mezcla de gases y posteriormente, se midió el gas que retornó a la jeringa. Este volumen corresponde al CH₄ más gases menores (VCH₄+GM), el cual se ajustó al cálculo de metano teórico usando el factor 0.77, de acuerdo con la proporción de metano en la mezcla de gases dentro rumen (Zhong et al., 2016).

Cuadro 1. Solución mineral para la preparación de inóculo ruminal.

Reactivo	CONCENTRACIÓN (g L⁻¹)
KH₂PO₄	0.45
(NH₄)₂ SO₄	0.45
NaCl	0.90
MgSO₄	0.18
CaCl₂	0.12
Na₂CO₃	4

Adaptado de Miranda-Romero et al., 2020.

Cuadro 2. Solución reductora para la preparación de inóculo ruminal.

Reactivo	Concentración
Na₂S (g)	0.25
L-cisteína (g)	0.25
NaOH (mL L⁻¹)	0.8

Adaptado de Miranda-Romero et al., 2020.

3.4.4 Diseño experimental

El diseño experimental utilizado fue completamente al azar, los tratamientos se asignaron en un arreglo factorial. El primer factor fue la dieta, con tres niveles de integración de café (T0: 0 %, C5: 5 % y C10:10 %). El segundo factor es el inóculo utilizado con dos niveles (inóculo adaptado o no adaptado). La comparación de medias se realizó con la prueba de Tukey con una significancia a $p=0.05$.

$$y_{ijk} = \mu + A_i + B_j + AB_{ij} + e_{ijk}$$

Donde:

y_{ijk} : Variable respuesta correspondiente al nivel i del factor A , nivel j del factor B y observación k ;

μ : Media general;

A_i : Efecto del i -ésimo nivel del factor A (Dieta);

B_j : efecto del j -ésimo nivel del factor B (Inóculo);

AB_{ij} : efecto de la interacción del i -ésimo nivel del factor A con el j -ésimo nivel del factor B ;

se asume e_{ijk} : error aleatorio $\sim \text{NIID}(0, \sigma^2_e)$

3.5 Resultados

El Cuadro 3 muestra los parámetros de cinética de producción de gas. El volumen total de gas producido (VT) fue mayor en dietas con integración de café, siendo el tratamiento C5 el más alto (281.57 mL g⁻¹) con inóculo adaptado a cada dieta; sin embargo, en inóculo no adaptado, la presencia de café redujo la producción total de gas; la tasa de fermentación (S) fue mayor en los tratamientos C0 y C10 en inóculo adaptado, pero cuando el inóculo no era adaptado no se encontraron diferencias ($p < 0.05$).

Cuadro 3. Efecto de la inclusión de residuos de café gastado (RCG) sobre en los parámetros de la producción de gas de fermentación in vitro^z.

RCG % / Inóculo	Parámetros de producción de gas					
	Vm (ml g ⁻¹ MS)		S (h ⁻¹)		L (h)	
	INA	IA	INA	IA	INA	IA
0	261.70 ^{ab}	219.53 ^{cd}	0.033 ^{ab}	0.035 ^a	-0.55 ^b	1.23 ^a
5	217.00 ^d	281.57 ^a	0.033 ^{ab}	0.032 ^b	-0.46 ^b	-0.08 ^b
10	217.80 ^{cd}	242.13 ^{bc}	0.033 ^{ab}	0.035 ^a	-0.24 ^b	0.50 ^{ab}
Factor	P					
RCG	0.010		0.023		0.072	
Inóculo	0.003		0.069		0.0004	
RCG*Inoculo	0.001		0.056		0.035	
Lineal	0.0312	0.0006	0.506	0.506	0.0689	0.4263
Cuadrático	0.0003	0.0078	0.0065	0.6973	0.0164	0.8347

Para cada variable, medias con diferente letra por columnas y filas indican diferencias significativas; ^zVT: volumen total, S: tasa de fermentación, L: fase LAG.

La interacción del inóculo con la integración de RCG, fue positiva ($p < 0.05$; Figura 2) en todos los parámetros de producción de gas (Vm, S y L). En La Figura 1 se muestra la curva de producción de gas por cada tratamiento; la inclusión de 5 y 10 % de RCG en un inóculo no adaptado tuvieron un comportamiento similar a la dieta control en inóculo adaptado, estos tratamientos compartían el inóculo. Además, cuando el inóculo estaba adaptado a la presencia de RCG se obtuvieron mayores producciones de gas en todas las dietas ($p < 0.05$).

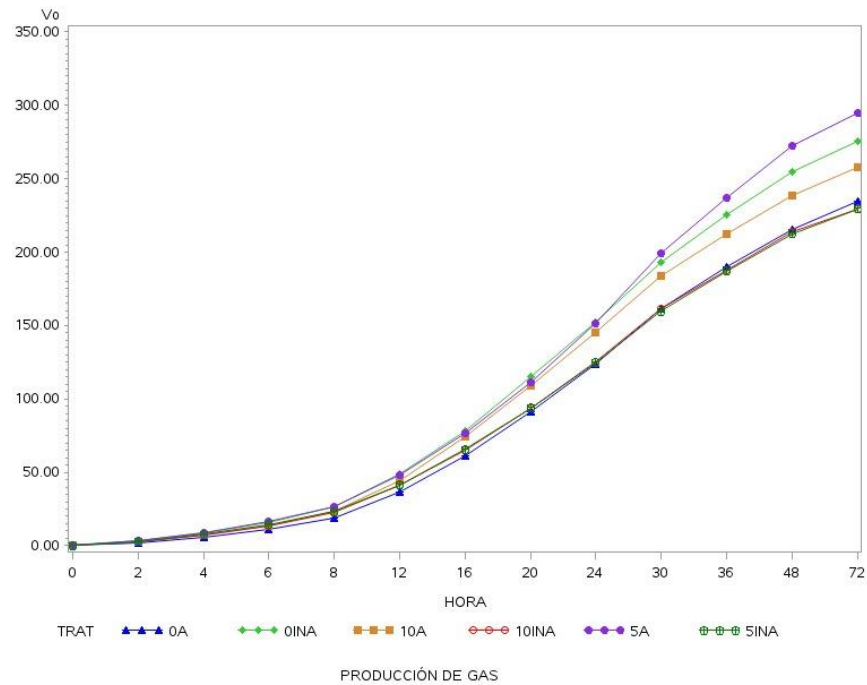


Figura 1. Efecto de la inclusión de residuo de café gastado (RCG; 0, 5 y 10 %) y la adaptación del inóculo (A: adaptado e INA: inadaptado) en la producción de gas acumulado a las 72 h.

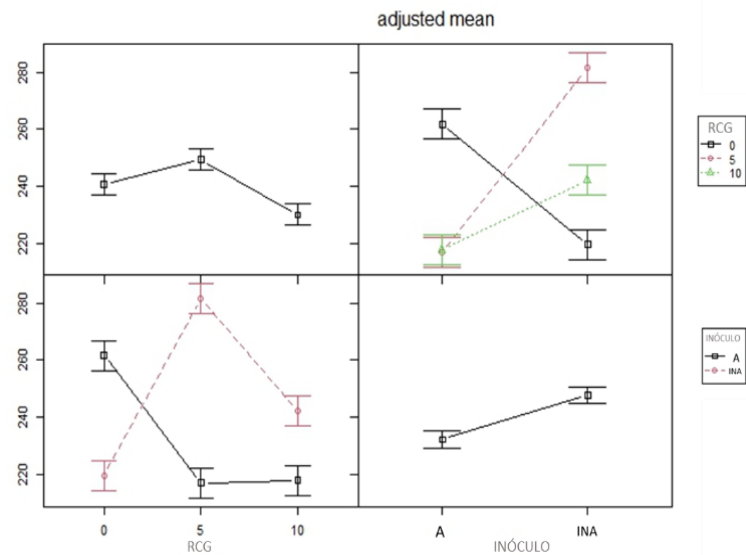


Figura 2. Análisis de efectos principales e interacción del residuo de café gastado (RCG) y adaptación del inóculo (A: adaptado; INA: inadaptado) en el volumen de gas producido a las 72 h.

El Cuadro 4 muestra los valores de fracciones fermentables. La FFR obtuvo su valor más alto ($p<0.05$) en el tratamiento C5 (22.34 %), mientras que el menor es C0 (17.13 %), ambos en inóculo adaptado. La FFM fue mayor en C5 en un inóculo adaptado y C0 en inóculo no adaptado ($p<0.05$), además, la inclusión de café redujo la FFM en este mismo medio. El tratamiento C5 en inóculo adaptado obtuvo el valor más alto ($p<0.05$) en la FFL.

La DIVMS a las 72 h fue mayor sin la inclusión de café, en ambos inóculos (74.08 y 71.88 %, respectivamente), y para los tratamientos fermentados en inóculos adaptados. Los resultados mostraron un efecto por la inclusión de café y el inóculo usado, pero no existe interacción entre ellos ($p>0.05$; Figura 3).

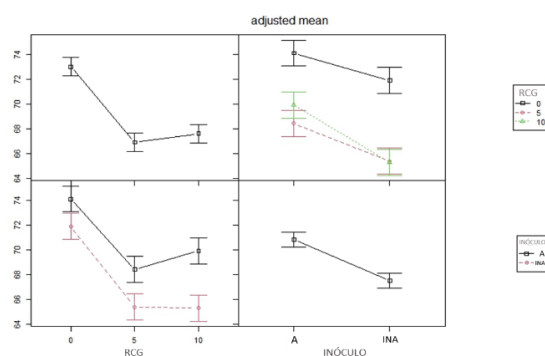


Figura 3. Análisis de efectos principales e interacción del residuo de café gastado (RCG) y adaptación del inóculo (A: adaptado; INA: inadaptado) en la degradabilidad de la materia seca (DIVMS72).

El Cuadro 5 muestra los índices de impacto ambiental, los cuales presentaron interacción entre la integración de RCG y la adaptación al inóculo ($p<0.05$), a excepción de CO_2 ($p>0.05$). La producción de metano tuvo valor mínimo de 5.69 % en C10 con un inóculo no adaptado. Mientras que en este mismo ambiente, el C0 mostró el valor más alto con 11.84 % ($p<0.05$). La adición de café en un ambiente no adaptado presentó una tendencia a reducción en la producción de metano, a diferencia de lo observado en un inóculo adaptado.

Cuadro 3. Efecto de la inclusión de café gastado sobre las fracciones de fermentación *in vitro*^z.

FRACCIONES DE FERMENTACIÓN

RCG % / Inóculo	FFR (%)		FFM (%)		FFL (%)		FFT (%)		DIVMS72 (%)		FFT/DIVMS72 (%)	
	INA	IA	INA	IA	INA	IA	INA	IA	INA	IA	INA	IA
0	21.28 ^{ab}	17.13 ^d	17.29 ^a	14.31 ^b	22.67 ^b	21.23 ^b	61.23 ^{ab}	52.67 ^c	71.88 ^{ab}	74.08 ^a	85.33 ^{ab}	71.10 ^d
5	18.52 ^{cd}	22.34 ^a	13.29 ^b	17.39 ^a	19.87 ^b	26.97 ^a	51.68 ^c	66.69 ^a	65.38 ^c	68.41 ^{bc}	79.04 ^b	97.56 ^a
10	18.29 ^{cd}	19.67 ^{bc}	13.84 ^b	16.45 ^a	19.27 ^b	21.00 ^b	51.39 ^c	57.67 ^{bc}	65.28 ^c	69.90 ^{ab}	78.79 ^{bc}	81.85 ^{bc}
Factor	. ----- P -----.											
RCG	0.04		3.223		0.005		0.006		0.0001		0.0078	
Inóculo	0.438		0.0038		0.003		0.002		0.0023		0.298	
RCG*Inoculo	<0.0001		<0.0001		0.0006		<0.0001		0.52		0.0003	
Lineal	0.0008	0.0376	0.0006	0.018	0.0181	0.8521	0.0009	0.0533	0.0055	0.0236	0.1233	0.0404
Cuadrático	0.0228	0.0032	0.0026	0.0129	0.2761	0.0012	0.0165	0.0003	0.0556	0.0248	0.3785	0.001

Para cada variable, medias con diferente letra por columnas y filas indican diferencias significativas; z FFR: fracción de fermentación rápida, FFM: fracción de fermentación media, FFL: fracción de fermentación lenta, FFT: fracción de fermentación total, DIVMS: degradabilidad de la materia seca a las 72 horas, FFTDIV: relación entre la FFT Y DIVMS.

Cuadro 4. Efecto de la inclusión de café gastado sobre los índices de impacto ambiental a 24 h^z

VARIABLES DE IMPACTO AMBIENTAL												
RCG % / Inóculo	VT (mL)		CH ₄ (mL)		CO ₂ (mL)		CH ₄ (%)		IPCG		IIA	
	INA	IA	INA	IA	INA	IA	INA	IA	INA	IA	INA	IA
0	148.3	130.6	17.53 ^a	9.01 ^{bc}	125.5	119	11.84 ^a	6.91 ^{bc}	528.57 ^a	326.18 ^{bc}	3.57 ^a	2.50 ^{bc}
5	130.6	135.9	10.56 ^b	9.46 ^b	116.9	123.5	8.08 ^b	6.96 ^{bc}	359.82 ^b	341.04 ^{bc}	2.75 ^b	2.51 ^{bc}
10	131.7	134	7.49 ^d	10.86 ^b	121.9	119.9	5.69 ^d	8.11 ^b	294.13 ^c	369.68 ^b	2.23 ^c	2.76 ^b
Factor	.----- P -----.											
RCG	0.18		<0.0001		0.0846		<0.0001		<0.0001		<0.0001	
Inóculo	0.3		<0.0001		0.8299		0.0004		0.0002		0.0004	
RCG*Inoculo	0.02		<0.0001		0.2191		<0.0001		<0.0001		<0.0001	
Lineal	0.0136	0.5888	0.0063	0.0774	0.322	0.806	0.195	0.1117	0.0031	0.0651	0.0195	0.1116
Cuadrático	0.0666	0.521	0.4837	0.7675	0.2051	0.5099	0.8628	0.654	0.3249	0.8384	0.862	0.654

Para cada variable, medias con diferente letra por columnas y filas indican diferencias significativas; z VT: volumen total, IPCG: índice de potencial de calentamiento global, IIA: índice de impacto ambiental.

3.6 Discusión

La fermentación ruminal fue modificada por la adición de RCG. Además, la interacción entre el RCG y la adaptación del inóculo fue significativa ($p < 0.05$) para la mayoría de las variables analizadas. La presencia de metabolitos secundarios como ácido ferúlico ($12393 \text{ mg kg RCG}^{-1}$), ácido cafeico ($885 \text{ mg kg RCG}^{-1}$), cafeína ($894 \text{ mg kg RCG}^{-1}$) (Carta et al., 2022), ácido clorogénico ($6220 \text{ a } 13240 \text{ mg kg RCG}^{-1}$) y melanoidinas ($100 \text{ a } 847 \text{ mg kg RCG}^{-1}$) (Bravo et al., 2012) en el RCG, explican los cambios en la fermentación ruminal.

La DIVMS a las 72 h se afectó por la adición de café, la reducción fue desde 5.64 % en inóculo adaptado hasta 9.18 % en inóculo no adaptado. Batbekh et al. (2023) encontraron un aumento de 3.1 % en la degradabilidad *in vitro* por la adición de 1 % de RCG, pero una reducción de 3.27 % con la adición de 10 % de RCG. En un estudio *vivo* realizado por Choi et al. (2018) encontraron disminución de 5.25 % en la DIVMS con la adición de 10 % de RCG. Sin embargo, también reporta una reducción en la digestibilidad de la proteína cruda y FDA. Estas reducciones están asociadas a la presencia de polifenoles que son considerados modificadores de la actividad enzimática, ya que tienen la capacidad de precipitar proteínas, los taninos son capaces de formar complejos a través de enlaces covalentes y no covalentes, aumentando la capacidad enzimática a bajos niveles, pero disminuyendo cuando se presentan en niveles altos (Adamczyk et al., 2017).

El C5 en inóculo adaptado fue el más fermentado, dándose en cada fracción y VT, lo que indica un incremento en la actividad microbiana. Además, hubo diferencias por el inóculo. La adición de café en medios no adaptados tendió a disminuir el VT. Pero hubo un incremento cuadrático ($p < 0.001$) cuando se fermentó en un inóculo adaptado, lo cual sugiere un cambio de las poblaciones microbianas a la presencia de RCG. Similarmente, Goiri et al. (2020) encontraron cambio en las poblaciones bacterianas a los 50 d de adaptación, aumentando la diversidad y el índice de Shannon ($p < 0.05$) linealmente. Además, Jin et al. (2020) reportaron una disminución de la producción de gas con la adición de ácido

cafeico en dietas altas en forraje, así como reducciones lineales de *R. albus* y *B. fibrisolvens*.

La producción de metano se redujo 31.8 y 51.9 % con la adición de 5 y 10 % de RCG, respectivamente, en comparación con el grupo control en un medio no adaptado; también hubo una tendencia de reducción de VT, lo cual podría significar que parte de la reducción se debe a una inhibición de la fermentación. Contrariamente, Batbekh et al. (2023) no encontraron diferencias significativas ($p>0.05$) por la adición RCG. No se encontraron más estudios animales que analicen la producción de metano con la adición de RCG, pero sí ha sido estudiada para la producción de biogás. Kampioti y Komilis (2022) reportaron que la inclusión de RCG reduce el contenido de metano en la producción de biogás, al incluirlo en 25 y 50 %, lo cual se atribuye a una reducción del pH; además, contiene altas cantidades de iones K^+ los cuales afectan el proceso anaerobio. Otro factor que reduce la producción de metano es la presencia de metabolitos secundarios, el ácido clorogénico es un antimicrobiano que provoca cambios irreversibles en la permeabilidad de la membrana celular de algunas bacterias (Lou et al., 2011). Los ácidos hidroxicinámicos son tóxicos para bacterias celulolíticas en condiciones de sustratos fibrosos (Jin et al., 2020). Las melanoidinas presentan actividad bacteriostática, en bajas concentraciones secuestran hierro del medio y en altas concentraciones fungen como bactericida al eliminar cationes de Mg^{2+} (Rufián-Henares & De la Cueva, 2009).

En el presente estudio muestra que en los medios adaptados no existe una diferencia significativa en la producción de metano, pero hay una tendencia de aumento, posiblemente las altas dosis de ácido cafeico sobrepasaron la capacidad de hidrogenación de bacterias celulolíticas, dándose una descomposición metanogénica (Jin et al., 2020).

Los metabolitos secundarios presentes en el café tienen efectos negativos en animales, lo cual podrían generar cambios fisiológicos en los rumiantes; las melanoidinas inhiben la actividad de la tripsina (Raupbach et al., 2024) y la cafeína interfiere con la función de la actina (Tazzeo et al., 2012). Sin embargo,

otros estudios muestran que extractos de pulpa de café inhiben la eclosión de huevos *Haemonchus* spp. y *Trichostrongylus* spp (López-Rodríguez et al., 2023). Además, la suplementación con cafeína mejoró la supervivencia de corderos (Robertson et al., 2018), por lo anterior es necesario realizar más estudios *in vivo* en los que se evalúen parámetros conductuales y de salud en rumiantes para establecer dosis idónea.

3.7 Conclusión

En las condiciones de este estudio, la adición de 5 % de RCG en la dieta fue suficiente para disminuir la producción y concentración de CH₄. Sin embargo, el efecto es transitorio y se pierde con la adaptación del inóculo, generando una reducción en la degradabilidad de la materia seca. Aún es necesario determinar cuáles son los metabolitos secundarios involucrados, su efecto individual y combinado, en la modulación de la microbiota ruminal. Es recomendable realizar estudios *in vivo* que permitan determinar el efecto del RCG en variables productivas de rumiantes.

3.8 Literatura citada

- Kampioti, A., & Komilis, D. (2022). Anaerobic co-digestion of coffee waste with other organic substrates: A mixture experimental design. *Chemosphere*, 297, 134124. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2022.134124>
- AOAC (1990) Official Methods of Analysis. 15th Edition. *Association of Official Agricultural Chemists*. Washington DC, USA. 2000p
- Adamczyk, B., Simon, J., Kitunen, V., Adamczyk, S., & Smolander, A. (2017). Tannins and their complex interaction with different organic nitrogen compounds and enzymes: Old paradigms versus recent advances. *ChemistryOpen*, 6(5), 610–614. <https://doi.org/10.1002/open.201700113>
- Batbekh, B., Ahmed, E., Hanada, M., Fukuma, N., & Nishida, T. (2023). Assessment of the impact of coffee waste as an alternative feed supplementation on rumen fermentation and methane emissions in an *in vitro* study. *Fermentation*, 9(9), 858. <https://doi.org/10.3390/fermentation9090858>
- Bravo, J., Juániz, I., Monente, C., Caemmerer, B., Kroh, L. W., De Peña, M., & Cid, C. (2012). Evaluation of Spent Coffee Obtained from the Most Common Coffeemakers as a Source of Hydrophilic Bioactive Compounds.

- Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 60(51), 12565-12573.
<https://doi.org/10.1021/jf3040594>
- Carta, S., Tsiplakou, E., Nicolussi, P., Pulina, G., & Nudda, A. (2022). Effects of spent coffee grounds on production traits, haematological parameters, and antioxidant activity of blood and milk in dairy goats. *Animal*, 16(4), 100501.
<https://doi.org/10.1016/j.animal.2022.100501>
- Choi, Y., Rim, J., Na, Y., & Lee, S. (2018). Effects of dietary fermented spent coffee ground on nutrient digestibility and nitrogen utilization in sheep. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, 31(3), 363-368.
<https://doi.org/10.5713/ajas.17.0654>
- Comité de Bienestar Animal COBIAN del Colegio de Posgraduados. (2023) Reglamento para el uso y cuidado de animales destinados a la investigación. *Normateca COLPOS*. México. 27pp. Consultado en: [colpos.mx/normaInterna/pro_dicta\(comen\).html](https://colpos.mx/normaInterna/pro_dicta(comen).html)
- Dhanasekaran, D. K., Silva, T. P. D. E., Filho, A. L. A., Sakita, G. Z., Abdalla, A. L., Louvandini, H., & Elghandour, M. M. (2019). Plants extract and bioactive compounds on rumen methanogenesis. *Agroforestry Systems*, 94(4), 1541-1553. <https://doi.org/10.1007/s10457-019-00411-6>
- Goiri, I., De Otálora, X. D., Ruíz, R., Rey, J., Atxaerandio, R., Lavín, J. L., Martín, D. S., Orive, M., Iñarra, B., Zufía, J., Urkiza, J., & García-Rodríguez, A. (2020). Spent Coffee Grounds Alter Bacterial Communities in Latxa Dairy Ewes. *Microorganisms*, 8(12), 1961.
<https://doi.org/10.3390/microorganisms8121961>
- Jin, Q., Wang, Y., Tan, X., Liu, G., Zhang, X., Liu, X., Wan, F., & Chen, W. (2020). Caffeic acid modulates methane production and rumen fermentation in an opposite way with high-forage or high-concentrate substrate in vitro. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 101(7), 3013-3020.
<https://doi.org/10.1002/jsfa.10935>
- López-Rodríguez, G., Zaragoza-Bastida, A., Reyes-Guerrero, D. E., Olmedo-Juarez, A., Valladares-Carranza, B., Vega-Castillo, L. F., Rivero-Perez, N. (2023) Coffee Pulp: A Natural Alternative for Control of Resistant Nematodes in Small Ruminants. *Pathogens*. 12(1). doi: 10.3390/pathogens12010124.
- Lou, Z., Wang, H., Zhu, S., Ma, C., & Wang, Z. (2011). Antibacterial Activity and Mechanism of Action of Chlorogenic Acid. *Journal of Food Science*, 76(6).
<https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2011.02213.x>
- Menke K. E., & Steingass H. (1988). Estimation of the energetic feed value obtained from chemical analysis and in vitro gas production using rumen fluid. *Animal Research and Development*, 27, 7-55.
- Raupbach, J., Troise, A. D., & Fogliano, V. (2024). Water-Soluble coffee melanoidins inhibit digestive proteases. *Journal of Agricultural and Food*

- Robertson, S., Friend, M., Doran, G., & Edwards, S. (2018). Caffeine supplementation of ewes during lambing may increase lamb survival. *Animal*, 12(2), 376-382. <https://doi.org/10.1017/s1751731117001446>
- Rufián-Henares, J. Á., & De la Cueva, S. P. (2009). Antimicrobial Activity of Coffee Melanoidins—A Study of Their Metal-Chelating Properties. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57(2), 432-438. <https://doi.org/10.1021/jf8027842>
- Schofield P., Pitt R. E., & Pell A. N. (1994). Kinetics of fiber digestion from in vitro gas production. *Journal of Animal Science*, 72, 2980-2991. DOI:10.2527/1994.72112980x
- Tazzeo T, Bates G, Roman HN, Lauzon AM, Khasnis MD, Eto M, Janssen LJ. (2012). Caffeine relaxes smooth muscle through actin depolymerization. *American Journal Physiology Lung Cellular and Molecular Physiology*. 303(4). 334-42. doi: 10.1152/ajplung.00103.2012. Epub 2012 Jun 8. PMID: 22683573
- Theodorou M. K., Williams B. A., Dhanoa M. S., McAllan A. B., & France J. (1994). A simple gas production method using a pressure transducer to determine the fermentation kinetics of ruminant feeds. *Animal Feed Science and Technology*, 48, 185-197.
- Van Soest P. J. B., Robertson J. A., & Lewis B. (1991). Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and non-starch polysaccharides in relation to animal nutrition. *Journal of Dairy Science*, 74, 3583-3597.
- Zhong R. Z., Fang Y., Sun H. X., Wang M., & Zhou D. W. (2016). Rumen methane output and fermentation characteristics of gramineous forage and leguminous forage at differing harvest dates determined using an in vitro gas production technique. *Journal of Integrative Agriculture*, 15, 414-42.
- Miranda-Romero LA, Tirado-González DN, Tirado-Estrada G, Améndola-Massiotti R, Sandoval-González L, Ramírez-Valverde R, Salem AZ (2020) Quantifying non-fibrous carbohydrates, acid detergent fiber and cellulose of forage through an in vitro gas production technique. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 100, 3099-3110.
- Mussatto, S. I., Machado, E. M. S., Martins, S., & Teixeira, J. A. (2011). Production, composition, and application of coffee and its industrial residues. *Food and Bioprocess Technology*, 4(5), 661-672. <https://doi.org/10.1007/s11947-011-0565-z>
- Nabais, J., P. Nunes, P. Carrott, M. Carrott, A. Macías y M. Díaz-Díez (2008). Production of activated carbons from coffee endocarp by CO₂ and steam activation. *Fuel Processing Technology*, 89, 262-268.

Giroto, F., Pivato, A., Cossu, R., Nkeng, G. E., & Lavagnolo, M. C. (2017). The broad spectrum of possibilities for spent coffee grounds valorisation. *Journal of Material Cycles and Waste Management*, 20(1), 695-701. <https://doi.org/10.1007/s10163-017-062>

APENDICE 1. Efecto del café gastado en la población de folículos antrales de ovejas



EFFECTO DEL CAFÉ GASTADO EN LA POBLACIÓN DE FOLÍCULOS ANTRALES DE OVEJAS

EFFECT OF SPENT COFFEE ON THE OVARIAN ANTRAL FOLLICLE OF EWE

Mireles-Martínez Carlos Enrique, Vallejo-Hernández Laura Haydée y Sánchez-Chávez Andrea

Posgrado en Producción Animal, Universidad Autónoma Chapingo, Departamento de Enseñanza, Investigación y Servicio en Zootecnia, CP 56230, Texcoco, Estado de México

RESUMEN

La adición de residuo de café gastado (RCG) en dietas de ovejas es una fuente de antioxidantes naturales. El objetivo del presente trabajo fue determinar el efecto de la inclusión de RCG sobre la actividad ovárica de ovejas. Se utilizaron 15 ovejas criollas, clínicamente sanas y bloqueadas por peso vivo. Distribuidas completamente al azar en tres tratamientos, las cuales fueron alimentadas por 25 d con las siguientes dietas: T0= dieta control sin RCG, C5 = dieta control con 5 % de RCG, C10= dieta control con 10 % de RCG. Los datos se analizaron con contrastes y polinomios ortogonales en el programa SAS. El número de folículos mayores a 2 mm, no mostraron diferencias ($p < 0.05$); sin embargo, el contraste T0 vs C10 mostró diferencias ($p < 0.05$). La respuesta de la actividad ovárica a la adición de RCG en la dieta fue significativa para comportamiento lineal ($p < 0.05$). El RCG adicionado hasta un 10 % en dietas de ovejas no mostró efectos negativos en la actividad ovárica y presentó un aumento en el número de folículos antrales.

Introducción

El estrés oxidativo, es el desequilibrio dado por la generación y eliminación de especies reactivas de oxígeno dentro de las células, que termina provocando la muerte celular por apoptosis o necrosis. Lo anterior genera efectos negativos en la reproducción animal, afectando el desarrollo embrionario, función alterada del ovario, reducción de los ovarios e infertilidad; los polifenoles son antioxidantes que complementan la función de vitaminas y enzimas antioxidantes, protegiendo contra el estrés oxidativo (Bešlo et al., 2022). El café gastado es el residuo del grano utilizado en la preparación de bebidas y puede llegar a representar de 40 a 45 % del peso fresco del fruto, el cual es rico en polifenoles (Desai et al., 2020). El objetivo del presente trabajo fue determinar el efecto de la adición de 5 y 10 % de RCG en dietas de ovejas, sobre el número de folículos antrales.

Material y Métodos

El experimento se realizó en la Granja Experimental, del Departamento de Zootecnia de la Universidad Autónoma Chapingo; ubicado en Texcoco de Mora, Estado de México. Se utilizaron 15 ovejas de raza criolla. Previo al experimento se aplicó un antiparasitario (Closantil® al 5 %) y vitamina ADE (Vigantol®). Se alojaron en corrales individuales (2 x 0.5 m), donde fueron adaptados por 7 d para posteriormente ser aleatorizadas y bloqueadas por peso corporal (25 ± 2 y 30 ± 3 Kg) a los tratamientos. Las dietas experimentales fueron formuladas isoproteicas con 13.5 % PC, e isoenergéticas a 2.2 Mcal EM Kg⁻¹; una dieta fungió como control sin adición de RCG (T0), la inclusión de 5 y 10 % de RCG se usaron para la dieta C5 y C10 respectivamente. El alimento fue restringido al 90 % del consumo y suministrado a las 0750 y 1650 h, con agua a libre acceso.

Se realizó la revisión ovárica en el día 25, con un ultrasonido (Aloka ProSound) y transductor transrectal de 7.5 MHz. Se contabilizó el número de folículos mayores a 2 mm. Los datos obtenidos fueron analizados por contrastes y polinomios ortogonales en el programa SAS bajo un diseño de bloques al azar.

Resultados y Discusión

La inclusión de RCG en dietas de ovejas, presentó una tendencia de aumento en el número de folículos antrales, T0= 9.0, C5= 10.6 Y C10= 12.2. El contraste T0 vs C10 mostró diferencias ($p < 0.05$). Sin embargo, el contraste T0 vs C5+C10 no fue diferente ($p = 0.052$). El tipo de respuesta fue significativa para el contraste lineal ($p < 0.05$), pero no para el cuadrático.



Ovario derecho de oveja en tratamiento. A: T0; B: C5; C: C10.

La adición de polifenoles en la dieta de rumiantes genera efectos diversos en la reproducción, dependiendo del perfil de polifenoles del alimento; Hashem et al. (2020) reporta que en el ovario tienen efectos en foliculogénesis, ovogénesis y esteroidogénesis, modificando la función lútea, tamaño de ovario y crecimiento de folículos. A diferencia del efecto negativo en eventos reproductivos generado por los fitoestrógenos (Flavonoides, estilbenos y lignanos), los demás fenoles como los taninos son más seguros y en dosis moderadas mejoran el estado nutricional, lo que impacta favorablemente en procesos reproductivos. La adición de hasta 10 % de RCG no causó efectos negativos en la actividad ovárica a los 25 d posteriores al inicio del suministro. Estos resultados concuerdan con lo reportado por Banchem et al. (2021), quien encontró que las ovejas pueden aumentar la tasa de ovulación cuando son alimentadas con dietas ricas en taninos, comparadas con dietas bajas en taninos y con el mismo nivel energético y proteico.

Conclusión

La inclusión de hasta un 10 % RCG en dietas de ovejas no afectó la actividad ovárica y presentó un aumento lineal en el número de folículos antrales. Lo cual, da pie a nuevas investigaciones en las que este subproducto pueda ser utilizado dentro de programas reproductivos como superovulación o sincronización, ayudando a mejorar la productividad.



Universidad Nacional Autónoma de México
Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia
Secretaría de Educación Continua

Otorgan la presente

Constancia

a

Carlos Enrique Mireles Martínez

Quien participo como expositor de **Cartel** en el:

2º Encuentro de Rumiantes “Crecer para avanzar”

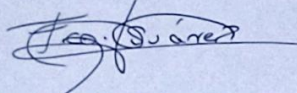
Con el tema:

Efecto del café gastado en la población de folículos antrales

Impartido por esta Institución
del 6 al 8 de diciembre de 2023.

“POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU”
Ciudad Universitaria, CdMx., a 8 de diciembre de 2023.




Dr. Francisco Suárez Güemes
Director de la FMVZ


Dr. Orbelín Soberanis Ramos
Secretario de Educación Continua