

## UNA TÉCNICA SENCILLA PARA LA MEDICIÓN DE EMISIONES DE METANO ENTÉRICO EN VACAS

BERRA, G.<sup>1</sup>; FINSTER, L.<sup>1</sup> & VALTORTA, S. E.<sup>2</sup>

### RESUMEN

La fermentación entérica del ganado representa una importante fuente de metano (CH<sub>4</sub>), gas con efecto de invernáculo, en la Argentina. Se llevaron a cabo dos ensayos para probar una técnica de medición de emisiones de CH<sub>4</sub> entérico en vacas lecheras. En el ensayo I se describe la técnica y se presentan los primeros resultados de emisión de CH<sub>4</sub> obtenidos. En el ensayo II, se utilizaron seis vacas secas para detectar el efecto de la adición de taninos condensados de quebracho a la dieta sobre las emisiones de CH<sub>4</sub>. En el ensayo I se determinaron emisiones de CH<sub>4</sub> medias diarias de 247 L/vaca<sup>-1</sup>. En el ensayo II se obtuvo una reducción del orden del 25% en la producción de gases ruminales y del 28% en las emisiones de CH<sub>4</sub> en respuesta a la adición de taninos condensados de quebracho a la dieta (P<0.10). La técnica demostró ser eficiente y, si bien se requiere más investigaciones, el agregado de taninos a la dieta es una técnica promisoría para mitigar las emisiones de CH<sub>4</sub> de vacunos en pastoreo.

*Palabras clave:* emisión de metano, técnica de medición, cambio global, mitigación.

### SUMMARY

#### **A simple technique to measure enteric methane emissions in cows.**

Enteric fermentation is an important source of methane (CH<sub>4</sub>), in Argentina. Two trials to test a technique to measure enteric CH<sub>4</sub> emissions in dairy cows were developed. In trial I, the technique is described and the first CH<sub>4</sub> emission results are presented. In trial II, six dry cows were utilized to detect the effect of adding quebracho tree condensed tannins to the diet on CH<sub>4</sub> emissions. Average daily CH<sub>4</sub> emission was 247 L cow<sup>-1</sup>, as determined in trial I. Decreases of 25% in total ruminal production and of 28% in CH<sub>4</sub> emissions (P<0.10) in response to addition of quebracho tree condensed tannins to the diet were detected in trial II. The technique showed to be efficient and, even when more research is needed, adding tannins to the diet is a promising technique to mitigate CH<sub>4</sub> emissions in grazing cattle.

*Key words:* methane emission, measuring technique, global change, mitigation.

---

1.- Instituto de Patobiología, Centro de Investigaciones Veterinarias y Agronómicas, INTA Castelar, Buenos Aires, Argentina.

2.- Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET), con lugar de trabajo en el Instituto de Patobiología, INTA Castelar, Buenos Aires, Argentina. / Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional del Litoral. [svaltorta@cnia.inta.gov.ar](mailto:svaltorta@cnia.inta.gov.ar)

Manuscrito recibido el 6 de octubre 2008 y aceptado para su publicación el 6 de abril de 2009.

## INTRODUCCION

El metano ( $\text{CH}_4$ ) es un potente gas con efecto invernadero (GEI), ya que su contribución al calentamiento global es 21 veces la correspondiente al  $\text{CO}_2$ , considerado como unidad (IPCC 2005). Existen diferentes fuentes de  $\text{CH}_4$ , entre las que se encuentra la fermentación entérica de los rumiantes que, en el caso de la República Argentina, es de suma importancia. Los inventarios de GEI para el país han mostrado que la producción de  $\text{CH}_4$  entérico representa alrededor del 30% de las emisiones nacionales (Fundación Bariloche, 2005 a). Cabe aclarar que los datos de los inventarios son estimaciones llevadas a cabo utilizando los factores de emisión por defecto del Panel Intergubernamental de Cambio Climático.

En la Argentina las existencias de ganado lechero son muy inferiores a las de ganado de carne, 2 millones vs. 47 millones de cabezas, (Fundación Bariloche, 2005 a). Sin embargo, la emisión promedio de  $\text{CH}_4$  por animal en ganado lechero es muy superior a la del ganado de carne: 91.79 vs. 51.78 kg  $\text{CH}_4$  cabeza<sup>-1</sup> año<sup>-1</sup>, llegando, en el caso de la vaca lechera lactante y gestante, a los 111.50 kg cabeza<sup>-1</sup> año<sup>-1</sup> (Fundación Bariloche, 2005 b). De ahí, la importancia de medir las emisiones de  $\text{CH}_4$  producidas por vacas lecheras en condiciones de campo y, además, de hallar formas de mitigación, en el presente marco de presiones crecientes en el plano internacional para reducir la emisión de GEI.

La manipulación de la dieta y el manejo se encuentran entre las prácticas más rápidamente disponibles para mitigar la emisión de  $\text{CH}_4$  entérico. Diferentes aditivos tienen potencial efecto reductor de las emisiones de  $\text{CH}_4$ . Entre ellos se encuentran los taninos, cuyo efecto reductor ha sido informado en ovejas (Waghorn *et al.*, 2002), cabras (Puchala *et al.*, 2005) y vacas lecheras

(Woodward *et al.*, 2004; Eckard, 2007).

La técnica de trazador del hexafluoruro de azufre ( $\text{SF}_6$ ) se utiliza muy a menudo para medir las emisiones de  $\text{CH}_4$  de rumiantes en pastoreo (Johnson *et al.*, 1994; Lassey *et al.*, 1997; Woodward *et al.*, 2006; Grainger *et al.*, 2007). A pesar de ser muy exacta, es muy costosa y su aplicación a campo presenta numerosas complicaciones. Además, el  $\text{SF}_6$  es un potentísimo GEI, con un potencial de calentamiento global 23900 veces superior al  $\text{CO}_2$ , y con una vida media de 3200 años (Machmüller & Hegarty, 2006). Si bien la mayoría de las aplicaciones de este compuesto están relacionadas al sector eléctrico, existe una tendencia a reducir su uso en todos los sectores, incluidas las técnicas de trazador (California Environmental Protection Agency, 2007).

En este contexto, no resulta llamativo que la posibilidad de contar con alguna técnica alternativa de medición de emisiones de  $\text{CH}_4$  entérico se haya convertido en una preocupación en los grupos de investigación durante los últimos tiempos.

El objetivo de este trabajo fue desarrollar una técnica alternativa sencilla y de fácil aplicación a campo, y su aplicación para comenzar a contar con mediciones del poder de mitigación de algunos componentes de la dieta, en este caso el tanino.

## MATERIALES Y MÉTODOS

**Ensayo I. Desarrollo de la técnica de medición de emisiones de metano entérico. Animal, sitio experimental y manejo.** El ensayo de puesta a punto de la técnica se llevó a cabo durante marzo de 2007 en la Unidad Experimental del Instituto de Patobiología de INTA Castelar, sobre una vaca Holstein seca de seis años de edad de 550 kg de peso. Quince días después de la

cirugía que se describe en la siguiente sección, el animal estuvo en condiciones de ser incluido en el ensayo, con un período de acostumbramiento de tres semanas y un período de medición de una semana. La dieta consistió en la oferta ad libitum de una pastura de alfalfa (*Medicago sativa* L.) y cebadilla (*Bromus unioloides* Kunth.) en pastoreo directo.

**Descripción del modelo experimental.** Para el modelo experimental se desarrolló una técnica de acuerdo con el siguiente protocolo:

**Fístula:** Se trabajó en un cepo con el animal parado, previo ayuno de 24 horas. Se rasuró un área en cuyo centro se ubicaba el área quirúrgica, por debajo de la apófisis transversa de la primera vértebra lumbar izquierda. El área se esterilizó con una solución de povidona-yodo. Se utilizaron 20 mL de anestesia local (lidocaína al 2%), que infiltró en el tejido celular subcutáneo y músculos oblicuo abdominal externo e interno. Un trocar de acero inoxidable de 2,5 cm de diámetro con filo en uno de sus extremos sirvió para efectuar un corte circular de la piel, los planos musculares y peritoneo. A partir de este corte, la entrada de aire en la cavidad abdominal requirió tomar pinza para prender el rumen y exteriorizarlo a través de la piel. Se efectuaron 6 puntos en U, fijando el rumen a la piel, con agujas atraumáticas curvas con nylon.

Se dejó sobre la herida un apósito con solución desinfectante durante 10 días. El día 11, los puntos de sutura se retiraron y se procedió a cortar la pared ruminal, lo que permitió el acceso directo al interior del rumen. A través de la incisión se introdujo una cánula que consistía en un traqueotubo (TT) número 9 al que se le inflaba el balón de su extremidad anterior que se encontraba en el interior del rumen. A la parte externa del

TT se le adosó una arandela plástica de 10 cm de diámetro, para fijarlo.

**Partes del sistema de recolección:**

a) Cánula agujereada: Un tubo plástico de 9 mm de diámetro externo y 2 mm de espesor, agujereado en su extremo cerrado (15 agujeros de 2 mm de diámetro), se fijó a un parche circular de caucho de 10 cm de diámetro.

b) Válvula unidireccional: se utilizó una válvula unidireccional de uso anestésico (ADOX, Argentina).

c) Bolsas de recolección: se utilizaron bolsas de polietileno grueso de 350 L de capacidad totalmente herméticas con un tubo de salida de plástico flexible fijado a una de las paredes.

d) Tubos conectores: se utilizaron tubos de silicona de como intermedarios entre los diferentes componentes descriptos

**Ensamblado del sistema de recolección:**

La porción externa de la cánula se conectó a la válvula unidireccional por medio de un tubo conector. A su vez, el otro extremo de la válvula unidireccional se conectó al tubo de salida de la bolsa colectora por medio de otro conector. La bolsa colectora se aspiró previamente para eliminar todo el aire que pudiera contener.

**Fijación del sistema de recolección:** La porción agujereada de la cánula se introdujo a través de la fístula en el interior del saco dorsal del rumen. El parche se adhirió a la piel por medio de cemento de contacto, formando un cierre hermético (sin fugas). De esta manera se obtuvo un sistema en el que el gas podía fluir desde el rumen hacia la bolsa, pero no retornar. Este sistema se había probado previamente para determinar la ausencia de pérdida esofágica de gases durante la eructación, por medio de un tubo

introducido en el esófago cervical a través de la nariz.

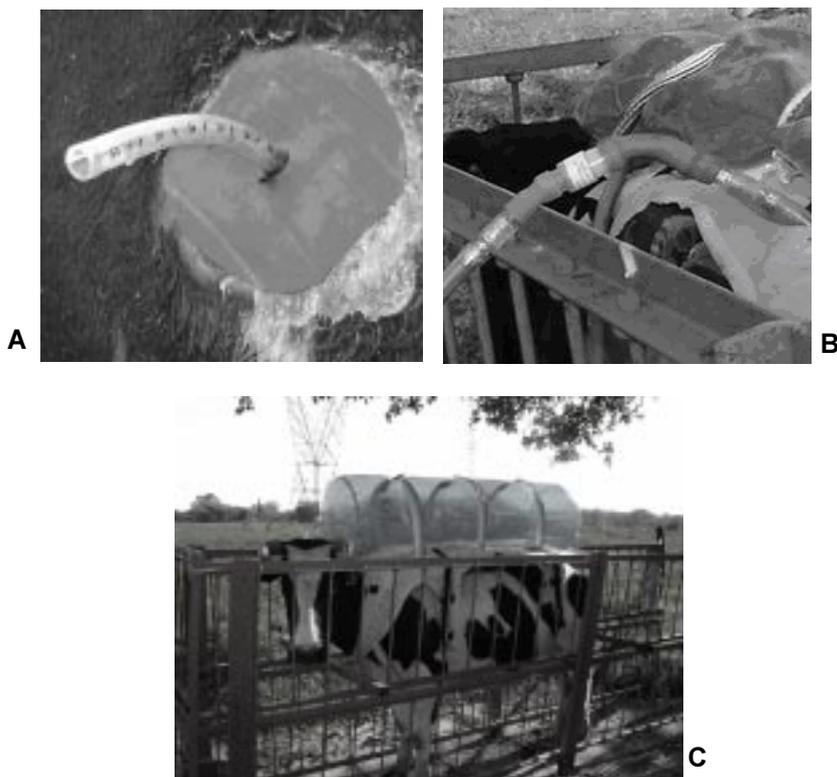
**Fijación de la bolsa de recolección y medición del volumen recolectado.**

La bolsa de recolección se sujetó sobre el animal por medio de un arnés diseñado para tal fin. La Fig. 1 a, b y c muestra las partes sobresalientes del sistema de medición

**Medición del volumen y muestreo y medición del metano.**

Durante la semana de medición, el animal se llevó al cepo a las 11:00, después del pastoreo matutino,

en tres días no consecutivos. A partir de ese momento se recolectó el gas durante 24 horas. Cada seis horas, comenzando a las 14:00, el sistema se desconectó de la bolsa de recolección y se derivó el flujo de gas a una bolsa para muestreo de gases de 5 L de capacidad, de Tedlar® (ICON, Argentina). El volumen de gas de la bolsa de recolección se midió trasvasando el contenido a un recipiente de volumen conocido (25 L). Cuando el remanente era inferior a 25 L, se utilizó un espirómetro (SPIROBANK, Italia) para determinar el volumen restante. El gas recolectado en la bolsa de muestreo, se analizó para



*Fig. 1: Componentes importantes del modelo experimental de medición de emisiones de metano: A. Cánula introducida en el rumen; B. Válvula unidireccional para evitar el retorno del gas al rumen; C. Bolsa de recolección llena, sujeta al arnés*

CH<sub>4</sub> por medio de un detector comercial (RIKEN KEIKI, Japón) calibrado por un sistema de dilución con controladores de flujo de masa.

**Ensayo II: Efecto de la adición de taninos condensados de quebracho sobre las emisiones de metano de vacas en pastoreo**

**Animales, sitio experimental y tratamientos.** El ensayo se llevó a cabo en la Unidad Experimental del Instituto de Patobiología de INTA Castelar en abril de 2007, con 21 días de acostumbramiento a la dieta y siete días de medición. Seis vacas Holstein secas (peso medio 450 ± 50 kg) se asignaron al azar a dos tratamientos: control (C) y tanino (T). Todos los animales pastoreaban una pastura de alfalfa y cebadilla en franjas diarias, con una sola franja para las seis vacas. También recibían 3 kg de un suplemento concentrado. Las vacas en T recibieron junto con el concentrado 120 ± 30 g de taninos condensados de quebracho (UNITAN, Argentina) por día.

**Mediciones.** Se midió la emisión de CH<sub>4</sub> entérico con la misma metodología y protocolo descriptos para el ensayo I.

**Análisis estadístico.** Los datos de emisión de CH<sub>4</sub> se analizaron en un diseño aleatorizado, de acuerdo con el modelo:

$$Y = \bar{i} + T_i + A_j + e_{ij},$$

donde:

$\bar{i}$ : media general

$T_i$ : efecto del tratamiento

$A_j$ : efecto del animal

$e_{ij}$ : error experimental

Las diferencias entre medias se analizaron con la prueba de Tukey (Sokal & Rohlf, 1995).

## RESULTADOS

La cantidad de gas, así como los porcentajes y volúmenes de CH<sub>4</sub>, producidos en los tres períodos no consecutivos de medición del ensayo I, pueden observarse en el Cuadro 1. El promedio de volumen total de gas ruminal fue de 911.7 ± 50.3 L/día. Las concentraciones de CH<sub>4</sub> variaron entre 20 y 32%. Los volúmenes de CH<sub>4</sub>, basados en el porcentaje de este gas obtenido en los diferentes horarios de muestreo representaron 247 L/día.

*Cuadro 1. Volumen total de gas ruminal, concentración de metano (CH<sub>4</sub>) en diferentes horarios y volumen de CH<sub>4</sub> producidos por una vaca Holstein seca de 550 kg de peso, durante tres períodos de 24 horas no consecutivos, en el ensayo I.*

Período	Gas ruminal (L/día)	Concentración de CH <sub>4</sub> (L/L)					CH <sub>4</sub> (L/día)
		14:00	20:00	02:00	08:00	Promedio	
1	965	31	27	26	22	26.5	255.7
2	865	31	30	29	20	27.5	237.9
3	905	30	29	28	23	27.5	248.9

Cuadro 2. Volumen total de gas ruminal, concentración de metano ( $CH_4$ ) en diferentes horarios y volumen de  $CH_4$  producidos por seis vacas Holstein secas en dos tratamientos: dietas sin (C) y con (T) el agregado de taninos condensados de quebracho ( $120 \pm 30$  g/vaca/día), en el ensayo II.

Trat	Vaca	Gas ruminal (L/day)	Concentración de $CH_4$ (L/L)					Volumen $CH_4$ (L/day)
			14:00	20:00	02:00	08:00	Prom.	
C	1	1180	32	30	32	28	30.5	359.9
	2	820	33	29	28	30	30.0	246.0
	3	1050	34	30	32	27	30.8	322.9
T	4	760	30	29	29	31	29.8	226.1
	5	710	31	29	28	30	29.5	209.5
	6	790	28	30	31	28	29.3	231.1

En el Cuadro 2 se muestran los volúmenes de gas ruminal total, concentraciones y volúmenes de  $CH_4$  registrados en el ensayo II, para los grupos C y T. Los promedios de gas ruminal total diario fueron de  $1016.7 \pm 182.3$  L para el grupo C y  $753.3 \pm 40.4$  L para los animales de T ( $P = 0.071$ ). Los valores correspondientes de  $CH_4$  resultaron  $309.6 \pm 58.1$  y  $222.2 \pm 11.3$  L, respectivamente ( $P = 0.062$ ).

## DISCUSIÓN

Los resultados del ensayo I mostraron que esta técnica podría ser utilizada bajo condiciones de campo, y que los resultados obtenidos son consistentes con los valores de emisiones de  $CH_4$  informados en la bibliografía (Johnson & Johnson, 1995).

En el ensayo II se comprobó que los taninos serían responsables de una disminución del 25.9% en la producción de gases ruminales y del 28.2% de las emisiones de  $CH_4$ . Ambas diferencias se consideraron significativas. Kolver & Müller (1998) propu-

sieron que diferencias estadísticas del 10% se considerasen significativas cuando los ensayos se realizaran bajo condiciones de pastoreo. Estos resultados coinciden con los de Woodward *et al.* (2004) que encontraron un 13% en la producción de  $CH_4$  (g  $CH_4$ /kg MS consumida) en animales que pastoreaban sobre *Lotus corniculatus*. De la misma manera, Eckard (2007) informó que la inclusión de taninos condensados de acacia negra en la dieta de vacas alimentadas sobre una pastura tierna de primavera producía reducciones de hasta el 29% en la emisión de  $CH_4$ .

Por otro lado, Beauchemin *et al.* (2007) no encontraron efectos sobre las emisiones de  $CH_4$ , cuando incluían taninos de quebracho a la dieta de vaquillonas ( $238 \pm 13$  kg iniciales) y novillos ( $207 \pm 8$  kg iniciales) Aberdeen Angus. A diferencia del presente, los animales de ese ensayo estaban en crecimiento y no se encontraban en condiciones de pastoreo.

En relación con otras especies, Puchala *et al.* (2005) encontraron una reducción del

30% en la emisión de CH<sub>4</sub> diario por cabras que recibían un forraje rico en taninos condensados (*Lespedeza cuneata*).

Se necesitan más investigaciones para confirmar estos resultados, así como para identificar el modo de acción de los taninos. También se requiere seguir investigando para caracterizar los efectos de diferentes tipos y niveles de taninos condensados para desarrollar propuestas de manejo adecuadas para diferentes categorías de ganado vacuno de carne y leche.

## CONCLUSIÓN E IMPLICANCIAS

a) La técnica desarrollada por este grupo de trabajo demostró ser eficiente para medir de forma sencilla y económica las emisiones de CH<sub>4</sub> bajo condiciones de pastoreo. Esto permitiría producir valores reales de emisión para los sistemas ganaderos argentinos que podrían, eventualmente, reemplazar los valores por defecto del IPCC tomados para el desarrollo de los inventarios de GEI provenientes de la ganadería en la Argentina.

b) Se demostró que la inclusión de taninos a la dieta de vacas secas es una técnica promisoriosa para reducir la emisión de CH<sub>4</sub>.

## BIBLIOGRAFÍA

**BEAUCHEMIN, K.A.; S.M. MCGINN; T.F. MARTINEZ & T.A. MCALLISTER.** 2007. Use of condensed tannin extract from quebracho trees to reduce methane emissions from cattle. *J. Anim. Sci.* 105:1990-1996

**CALIFORNIA ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY.** 2007. Climate Change - SF<sub>6</sub> Reductions in the Non-Electric Sector SF<sub>6</sub> Reductions from Non-Electric and Non-Semiconductor Applications. <http://www.arb.ca.gov/cc/sf6nonelec/sf6nonelec.htm> *Acceso 23/11/07*

**ECKARD, R.** 2007. The abatement challenge for Australian Agriculture. En: *Climate Change: Land Management, Agriculture and Forestry Workshop, 17th August, 2007*. [http://www.garnautreview.org.au/CA25734E0016A131/WebObj/Eckard17August2007-Theabatementchallengeforagriculture/\\$File/Eckard%2017%20August%202007%20-%20The%20abatement%20challenge%20for%20agriculture.pdf](http://www.garnautreview.org.au/CA25734E0016A131/WebObj/Eckard17August2007-Theabatementchallengeforagriculture/$File/Eckard%2017%20August%202007%20-%20The%20abatement%20challenge%20for%20agriculture.pdf) *Acceso 12/07/08*

**FUNDACIÓN BARILOCHE.** 2005a. Inventario de gases de efecto invernadero de la República Argentina - Año 2000. Tomo III. Responsables Inventarios Ganadería: G. Berra & L. Finster. <http://www.foroba.org.ar/2daCCC/Tomo%20III.pdf> *Acceso 20/11/2007*

**FUNDACIÓN BARILOCHE.** 2005b. Inventario de gases de efecto invernadero de la República Argentina - Año 2000. Tomo IV. Responsables Inventarios Ganadería: G. Berra & L. Finster. <http://www.foroba.org.ar/2daCCC/Tomo%20IV.pdf> *Acceso 20/11/2007*

**GRAINGER, C.; T. CLARKE; S.M. MCGINN; M.J. AULDIST; K.A. BEAUCHEMIN; M.C. HANNAH; G.C. WAGHORN; H. CLARK & R.J. ECKARD.** 2007. Methane emissions from dairy cows measures using the sulfur hexafluoride (SF<sub>6</sub>) tracer and chamber techniques. *J. Dairy Sci.* 90: 2755-2766

**IPCC (Intergovernmental Panel on Climate Change).** 1995. Second Assessment Report. Cambridge University Press. London.

**JOHNSON K.A. & D.E. JOHNSON.** 1995. Methane emission from cattle. *J. Anim. Sci.* 73: 2483-2487.

- JOHNSON, K.A.; M. HUYLER; H. WEST-BERG; B. LAMB & P. ZIMMERMAN.** 1994. Measurement of methane emissions from ruminant livestock using a sulphur hexafluoride tracer technique. *Environ. Sci. Technol.* 28: 359-362
- KOLVER, E.S. & L.A. MÜLLER.** 1998. Performance and nutrient intake of high producing Holstein cows consuming pasture or a total mixed ration. *J. Dairy Sci.* 81:1403-1411
- LASSEY, K.R.; M.J. ULYATT; R.J. MARTIN; C.F. WALJER & I.D. SHELTON.** 1997. Methane emissions measured directly from grazing livestock in New Zealand. *Atmos. Environ.* 31: 2905-2914
- MACHMÜLLER, A. & R. S. HEGARTY.** 2006. Alternative tracer gases for the ERUCT technique to estimate methane emissions from grazing animals. *Int. Cong. Series 1293:* 50-53
- PUCHALA, R.; B. R. MIN; A. L. GOETSCH & T. SAHLU.** 2005. The effect of a condensed tannin-containing forage on methane emission by goats. *J. Anim. Sci.* 83:182-186.
- SOKAL, R.R. & ROHLF, F.J.** 1995. *Biometry. The principles and practice of statistics in biological research.*, 3<sup>rd</sup> edition. Freeman and Co., New York, USA, 532 pp
- WAGHORN, G.C.; M.H. TAVENDALE & D.R. WOODFIELD.** 2002. Methanogenesis from forages fed to sheep. *Proc. N.Z. Grass Assoc.* 64: 167-169
- WOODWARD, S.L.; G.C. WAGHORN & N.A. THOMSON.** 2006. Supplementing dairy cows with oils to improve performance and reduce methane – Does it work? *Proc. N.Z. Soc. Anim. Prod.* 66: 176-181.
- WOODWARD, S.L.; G.C. WAGHORN & P.G. LABOYRIE.** 2004. Condensed tannins in birdsfoot trefoil (*Lotus corniculatus*) reduce methane emissions from dairy cows. *Proc. N.Z. Soc. Anim. Prod.* 64: 160-164.