



Evaluación y caracterización *in vitro* de la pulpa de aceituna como ingrediente en piensos de caprino lechero

Alberto M. Sánchez-García ¹, Manuel Romero Huelva ² y A. Ignacio Martín-García ³

Autor de Correspondencia: alberto.sanchez@eez.csic.es

Resumen:

El uso de subproductos agroalimentarios en alimentación animal supone una oportunidad para la transición a la bioeconomía. En España, la industria del olivar genera cerca de 612.000 toneladas/año de subproductos, en su mayoría pulpa de aceituna (PA), cuyas características y composición permiten que pueda ser usada frecuentemente como biomasa para la producción de energía o como ingrediente para la obtención del aceite de orujo, entre otros. Sin embargo, su utilización dentro del sector de la nutrición animal no está del todo definida ya que es un elemento que depende de factores coyunturales como las variaciones en la cosecha de la aceituna y la volatilidad de los precios de la alimentación animal y de la energía. Este estudio evaluó el valor nutritivo de una variante de PA (parcialmente deshuesada y desecada, pero sin reextractación) mediante el análisis de su composición nutritiva y la realización de cultivos *in vitro* de microorganismos ruminales para estudiar la fermentación ruminal (FR) tanto de la PA frente a otras materias primas comúnmente utilizadas en la elaboración de piensos para rumiantes, como de diferentes proporciones de incorporación de PA en un pienso comercial. La PA, a pesar de presentar una capacidad limitada para aportar nutrientes por su elevado contenido en lignina y bajo en proteína digestible, destacó por su contenido y composición en grasa. La ausencia de efectos negativos sobre la FR indicó la viabilidad de su empleo en la alimentación de rumiantes hasta en un 15 % de inclusión.

Palabras clave: pulpa de aceituna, rumiantes, caprino, subproductos, nutrición, economía circular, fermentación ruminal

In vitro evaluation and characterisation of olive pulp as a feed ingredient for dairy goats

Alberto M. Sánchez-García ¹, Manuel Romero Huelva ² and A. Ignacio Martín-García ³

Abstract:

The utilization of agri-food by-products in animal nutrition presents an opportunity for the transition to a bioeconomy. In Spain, the olive industry generates about 612,000 tonnes/year of by-products, primarily olive pulp (OP), whose characteristics and composition allow it to be frequently used as biomass for energy production or as an ingredient for obtaining pomace oil, among others. However, its use in the animal nutrition sector is not completely defined, since it is an element that depends on conjunctural factors such as variations in olive harvest and the volatility of animal feed and energy prices. This study evaluated the nutritional value of an OP variant (partially destoned and dehydrated, but without re-extraction) by analyzing its nutritional composition and conducting *in vitro* cultures of ruminal microorganisms to examine the ruminal fermentation (RF) of both OP compared to other raw materials commonly used in ruminant feed formulation, and different incorporation proportions of OP in a commercial feed. Despite OP's limited capacity to

¹ ESTACIÓN EXPERIMENTAL DEL ZAIDÍN (CSIC) – Granada (alberto.sanchez@eez.csic.es)

² ESTACIÓN EXPERIMENTAL DEL ZAIDÍN (CSIC) – Granada (manuel.romero@eez.csic.es)

³ ESTACIÓN EXPERIMENTAL DEL ZAIDÍN (CSIC) – Granada (ignacio.martin@eez.csic.es)

provide nutrients due to its high lignin content and low digestible protein, it stood out for its fat content and composition. The absence of negative effects on FR indicated the viability of its use in ruminant nutrition up to 15% inclusion.

Key Words: olive pulp, ruminants, goat, by-products, nutrition, circular economy, ruminal fermentation

1. INTRODUCCIÓN

El crecimiento global urge encontrar nuevas estrategias para satisfacer el aumento de la demanda de alimentos. La FAO estima que en 2050 la población mundial alcanzará los 10 mil millones de personas, de forma que la producción mundial de alimento debería de incrementarse en un 70% para poder satisfacer las necesidades de la población (FAO, 2009). Esto, unido a la previsible limitación de recursos disponibles, augura una situación de insostenibilidad en los distintos sectores agro-alimentarios. El sector ganadero está siendo uno de los más afectados, ya que las consecuencias generadas por el cambio climático (escasez de agua, fenómenos meteorológicos extremos, subida de las temperaturas) provocan que el acceso a alimentos (forrajes y cereales) se vea comprometido y genere incertidumbre para los profesionales del sector (Giridhar and Samireddypalle, 2015), (Rouget et al. 2012). En este sentido, el uso de subproductos agroalimentarios (SBP) es una excelente oportunidad para la transición a la economía circular. En la Unión Europea se producen alrededor de 16 millones de toneladas anuales de SBP y España se encuentra a la cabeza con cerca de 1,6 millones de toneladas de SBP (Correddu et al. 2020).

El empleo de SBP para la alimentación del ganado está globalmente extendida, siendo los rumiantes los principales candidatos debido a su capacidad para aprovechar la energía de la fibra gracias a la microbiota ruminal (Chen et al. 2022). Algunos estudios han mostrado efectos beneficiosos de los SBP sobre la ingesta, la fermentación ruminal (FR) y la producción de leche, mediada por los compuestos bioactivos que contienen (Jalal et al. 2023).

En España la industria del aceite de oliva supone el 95% del volumen total de los aceites producidos y su consumo alcanzó los 10,3 litros por persona en 2022 (MAPA, 2022). Esta alta producción conlleva un incremento en la obtención de un SBP, la pulpa residual final, conocida como orujo, que se utiliza principalmente como biomasa para la producción de energía, pero cuyo

destino dentro del sector de la nutrición animal no está del todo definido (Alburquerque et al. 2004). La composición del orujo es muy variable y éste se puede clasificar en diferentes tipos en función de su grado de humedad, el contenido graso, la cantidad de hueso, etc., dependiendo de la tecnología o el número de procesos de extracción a los que la masa de aceituna ha sido sometida. Un tipo de este SBP es la pulpa de aceituna (PA), también conocida como orujo graso seco y parcialmente deshuesado, que contiene una humedad inferior al 10 % y 4-6 % de grasa de excelente calidad (Fernandez Mayer, 2021), que la hacen interesante para su inclusión en piensos de rumiantes. Numerosos estudios han evaluado el efecto de distintos orujos sin encontrar efectos negativos sobre la ingesta, la digestibilidad de los nutrientes y la producción de leche en caprino (Arco-Pérez et al. 2017), además de mejorar la composición de la leche aumentando las proporciones en ácidos grasos beneficiosos para el consumidor (El Otmani et al. 2021) lo cual lo convierte en un ingrediente que podría ser interesante dentro del sector del caprino lechero.

2. OBJETIVOS

Con el fin de poder caracterizar la PA como ingrediente para la nutrición de pequeños rumiantes, el objetivo de este estudio fue evaluar el valor nutritivo y la FR *in vitro* de la PA. Para ello, se estudió la composición química y nutritiva de la PA y se llevaron a cabo dos experimentos basados en cultivos *in vitro* de microorganismos ruminales. En uno de ellos, se analizó la FR de la PA comparándola con otras materias primas comúnmente utilizadas en la elaboración de piensos para pequeños rumiantes. Mientras que, en el segundo experimento, se evaluó el impacto sobre la FR cuando la PA se incorporó en diferentes proporciones (0, 5, 10, 11,5 y 15%) dentro de un pienso comercial.

3. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 Animales

El manejo de los animales experimentales se realizó por personal cualificado, siguiendo las indicaciones del Real Decreto 53/2013 para la protección de animales destinados a investigación. Tales procedimientos fueron revisados por el Comité Ético en Experimentación Animal de la Estación Experimental del Zaidín, evaluados por el Comité de Ética del CSIC y autorizados por la Junta de Andalucía como órgano competente en la materia (autorización 06/07/2023/61). Los seis animales empleados en este trabajo pertenecen a la raza caprina murciano-granadina.

3.2 Experimentos e ingredientes y dietas experimentales

Para la consecución de los objetivos planteados se llevaron a cabo secuencialmente dos tipos de evaluaciones de la FR mediante incubaciones *in vitro* de:

- **PA frente a distintos ingredientes convencionales de piensos.** La PA procedió de una de las almazaras de DCOOP (Antequera, Málaga), mientras que los ingredientes seleccionados como candidatos a ser sustituidos en un pienso experimental fueron: salvado de trigo y tercerillas (ST), cascarilla de soja (CS), alfalfa granulada (AG), pulpa de remolacha (PR) y cebada (C). Todos fueron molidos con un tamaño de malla de 1 mm.
- **Dietas para pequeños rumiantes con distintos porcentajes de inclusión de la PA** en un concentrado para caprino lechero. Se diseñaron 6 dietas con porcentajes de incorporación de PA de 0, 5, 10, 11,5 y 15 % (Tabla 1). Todas las dietas mantuvieron un perfil y valor nutritivo equivalentes a la dieta control (0 %), teniendo en cuenta parámetros como proteína bruta (PB), fibra neutro detergente (FND), almidón, unidades forrajeras lecheras (UFL), proteína digestible en el intestino procedente de alimento (PDIA), proteína digestible en intestino limitada por la energía (PDIE), proteína digestible en intestino limitada por el nitrógeno (PDIN) y carbohidratos no estructurales (CNE).

Tabla 1. Parámetros de la fermentación ruminal *in vitro* de los ingredientes (Experimento 1)

	PA	AG	ST	CS	PR	C	EEM	P-valor
A (mL/g MS)	118 ^a	173 ^b	237 ^b	255 ^c	237 ^d	347 ^d	14,0	0,001
c (h ⁻¹)	0,090 ^c	0,060 ^b	0,070 ^b	0,050 ^{ab}	0,030 ^a	0,030 ^a	0,004	0,001
PG 6 h (mL GP/g MS)	53,0 ^a	60,3 ^{ab}	84,4 ^c	74,4 ^{bc}	61,2 ^{ab}	60,1 ^{ab}	3,78	0,001
PG24 (mL GP/g MS)	92,0 ^a	116 ^a	176 ^d	160 ^c	191 ^d	198 ^d	7,11	0,001
CH ₄ 6 h (mL CH ₄ /mL GP)	0,015 ^a	0,019 ^{ab}	0,028 ^b	0,027 ^b	0,018 ^{ab}	0,021 ^{ab}	0,012	0,003
CH ₄ 6 h (mLCH ₄ /g MS)	0,799 ^a	1,11 ^a	2,29 ^b	2,02 ^b	1,11 ^a	1,22 ^a	0,121	0,001
CH ₄ 24 h (mL CH ₄ /mL GP)	0,039 ^a	0,048 ^a	0,066 ^b	0,070 ^b	0,049 ^a	0,059 ^b	0,022	0,001
CH ₄ 24 h (mLCH ₄ /g MS)	3,62 ^a	5,61 ^{ab}	11,5 ^c	11,3 ^{bc}	9,59 ^{bc}	11,6 ^c	0,700	0,001
CH ₄ 24 h (mL CH ₄ / g MOd)	10,1 ^a	13,4 ^a	21,1 ^b	23,3 ^b	18,4 ^b	21,8 ^b	0,968	0,001
EM (MJ/kg MS)	5,37 ^a	6,16 ^b	7,90 ^{bc}	7,10 ^b	7,75 ^c	7,93 ^c	0,183	0,001
DMO (g MOd/kg MS)	360 ^a	419 ^b	543 ^c	485 ^d	523 ^d	533 ^d	12,7	0,001

"A": producción potencial de gas; "c": velocidad de producción de gas o degradación del sustrato; PG24: producción de gas acumulada a las 24 h; GP: gas producido; EM: energía metabolizable a las 24 h; DMO: digestibilidad de la materia orgánica; MOd: materia orgánica digerida; EEM: error estándar de la media; PA: pulpa de aceituna; AG: alfalfa granulada; ST: salvado de trigo; CS: cascarilla de soja; PR: pulpa de remolacha; C: cebada.

3.3 Incubaciones *in vitro*

El modelo empleado en estos experimentos se basó en el cultivo no renovado de microorganismos ruminales, según la metodología descrita por Theodorou et al. (1994) y detallada por Pardo et al. (2024) para las condiciones concretas de nuestro laboratorio. Así, se procedió a dispensar 50 mL de líquido ruminal (LR) tamponado (1:3) en botellas Wheaton, de 120 mL de capacidad total, que contenían, cada botella, 500 mg de uno de los seis ingredientes experimentales (PA, salvado y tercerillas, cascarilla de soja, alfalfa granulada, pulpa de remolacha o cebada). Cada ingrediente fue incubado independientemente en seis botellitas que respectivamente fueron inoculadas con LR procedente de cada uno de los seis animales donantes. Como blanco de fermentación para cada animal, se preparó una botella Wheaton con LR tamponado y sin sustrato alimenticio alguno. Así, se incubaron a 39 °C un total de 42 botellas Wheaton (7 botellas/animal) durante un periodo de 72 h.

Posteriormente, se hicieron medidas de producción (PG, mL) y presión de gas (PSI) del espacio de cabeza de las botellas a las 2, 4, 6, 8, 10, 24, 48 y 72 h desde el inicio de la fermentación. A las 24 h, se tomó una muestra de 5 mL de gas del espacio en cabeza de cada botella para determinar su contenido en CH₄ y muestras de líquido de incubación para determinar la concentración de amonio (N-NH₃), ácido láctico y ácidos grasos volátiles (AGV). Los detalles fueron los descritos en Pardo et al. (2024). Para el análisis de los AGV, se tomaron 0,8 mL de cada botella y se diluyeron en 0,8 mL de una solución de ácido metafosfórico

(20% v/v), conteniendo ácido crotonico (0,8 g/L) como estándar interno. También se tomaron sendas muestras (0,8 mL) que se diluyeron con 0,2 mL de una solución de ácido tricloroacético (15% v/v) para la determinación de N-NH₃ y ácido láctico. Todas las muestras líquidas fueron conservadas a -20 °C hasta su análisis.

Para poder determinar la cinética de degradación ruminal, se ajustaron los datos obtenidos de PG al modelo matemático $y = A \cdot (1 - e^{-c \cdot \text{tiempo}})$, que permite estimar el ritmo de digestión ("c") y la producción potencial de gas ("A") de la degradación ruminal.

Para el caso del ensayo *in vitro* realizado para evaluar el efecto de la sustitución de los ingredientes de un pienso comercial por cantidades crecientes de PA, se siguió la misma metodología que la descrita anteriormente. En este caso, se emplearon 36 botellas Wheaton, 6 por animal donante (blanco + cinco niveles de sustitución), conteniendo 200 mg de heno de avena, empleado como forraje, y 300 mg de los concentrados (proporción concentrado: forraje de 60:40) con aportes crecientes de PA (0,5, 10, 12,5 y 15%). Se realizaron medidas de PG a las 2, 4, 6 y 24 h, momento final este en el que se tomaron muestras del líquido para determinar AGV, N-NH₃ y ácido láctico. Antes de abrir las botellas se tomó gas en el espacio en cabeza para analizar la concentración de CH₄.

3.4 Cálculos

Tanto la energía metabolizable (EM, MJ/kg MS) como la digestibilidad de la materia orgánica (DMO, g/kg MS) se estimaron siguiendo las ecuaciones propuestas por Menke y Steingass (1988) y concretadas en Pardo et al. (2024). Para el cálculo de la PB se tuvo en cuenta el factor $N \times 6,25$. Para calcular la proporción CNE se tuvo en cuenta la fórmula: $CNE (\%) = 100 - (Cenizas - PB - EE - FND)$.

3.5 Análisis de composición de materias primas y dietas

Los análisis de composición química de los ingredientes y las dietas se llevaron a cabo mediante las metodologías descritas en Pardo et al. (2024). El análisis en

ácidos grasos de la pulpa se realizó mediante cromatografía de gases, según el procedimiento descrito en Arco et al. (2017).

3.6 Análisis estadístico

El análisis estadístico se planteó mediante la comparación ANOVA univariante, utilizando el programa SPSS (SPSS v.29.0.0.0) y aplicando como factor el tipo de sustrato empleado. Se consideraron como diferencias estadísticamente significativas los P valores menores o iguales a 0,05 y como tendencias de significación valores de P menores a 0,1 y mayores a 0,05.

4. RESULTADO Y DISCUSIÓN

4.1 Evaluación del valor nutritivo de la PA frente a otras materias primas

En lo referente a la composición química de la PA respecto al resto de ingredientes estudiados (Tabla 2), destaca su bajo contenido en CNE (20,4%) y, especialmente, azúcares (0,80%), mientras que el contenido graso es el más elevado (7,90%). La energía aportada por la PA es inferior al resto de los ingredientes, tanto en la EM como en energía neta para la producción de leche (ENL). Los valores relativos a la PB de la PA (9.87%) menor a la de tres de los cinco ingredientes estudiados, situándose por encima sólo de la PR y la C.

Referente a la composición en fibra, la PA destaca por un alto contenido en FND, FAD y LAD (49,2, 35,9 y 24,5 %, respectivamente), siendo su perfil similar al de la AG, aunque esta tiene un menor contenido en LAD. Los valores de composición son similares a los encontrados en Kovac et al. (2017) y Marcos et al. (2019b) . Sin embargo, para el parámetro del EE, si que se pudieron observar diferencias notables ya que, en nuestro caso, el valor fue de un 4,8% menor que el valor obtenido por Kovac y colaboradores (EE= 7,90 vs. 12,7%, respectivamente). Teniendo estos resultados en cuenta, el valor nutritivo de la PA sería inferior al del resto de las materias primas analizadas. Sin embargo, el perfil de ácidos grasos resultó interesante y especialmente insaturado (69,9% de ácidos grasos insaturados).

Tabla 2. Composición química y valor nutritivo de las distintas materias primas empleadas para la elaboración de piensos experimentales

Composición (g/100g MS)	PA	AG	ST	CS	PR	C
MS	91,5	93,4	87,4	89,8	88,7	90,5
Cenizas	11,8	4,90	6,50	12,1	4,10	2,70
FND	49,2	56,7	43,1	30,3	55,7	50,13
FAD	35,9	38,1	12,0	16,4	25,7	5,88
LAD	24,5	15,7	3,43	15,7	3,71	0,27
Almidón ¹	0,00	0,50	15,0	0,00	0,00	52,5
Azúcares ¹	1,00	1,90	5,80	1,50	6,00	1,60
CNE ¹	20,4	23,9	35,6	23,5	40,6	68,4
EE ¹	7,90	2,30	3,30	2,50	0,80	1,70
Ác grasos saturados, %	30,1	-	-	-	-	-
Ác grasos mono-insaturados, %	56,3	-	-	-	-	-
Ác grasos poli-insaturados, %	13,6	-	-	-	-	-
Ácidos grasos ω3, %	1,25	-	-	-	-	-
PB ¹	9,87	15,2	15,4	11,8	9,20	9,60
Valor Nutritivo						
EM ¹ (MJ/kg MS)	5,78	7,11	9,96	10,9	10,8	11,3
UFL ¹ (/kg MS)	0,43	0,62	0,85	0,95	0,94	1,00
ENL (MJ/kg MS) ¹	3,33	4,29	6,32	6,92	6,88	7,28
PBDIGR (Coef) ¹	53,0	66,0	67,0	70,0	63,0	65,0
PDIA (%) ¹	2,40	2,80	3,50	3,80	3,30	2,40
PDIE (%) ¹	3,60	7,20	8,90	9,50	9,10	8,20
PDIN (%) ¹	4,30	9,40	10,1	7,40	6,20	6,40

PA: pulpa de aceituna; ST: salvado de trigo y tercerillas; CS: cascarilla de soja; AG: alfalfa granulada; PR: pulpa de remolacha; C: cebada; MS: materia seca; PB: proteína bruta; EE: extracto etéreo; FB: fibra bruta; FND: fibra neutro detergente; FAD: fibra ácida detergente; LAD: lignina ácida detergente; CNE: carbohidratos no estructurales; EM : energía metabolizable de rumiantes; UFL: unidades forrajeras en leche; ENL , energía neta en la leche de rumiantes; %PBDIG : proteína bruta digestible en rumiante; PDIA: proteína digestible en intestino delgado de origen alimenticio; PDIE: Proteína Digestible en Intestino Delgado si la Energía disponible; PDIN, proteína digestible en intestino delgado si el nitrógeno disponible en rumen es limitante; 1: datos obtenidos de las tablas ("Tablas FEDNA 2019, 4ª edición), a excepción de EE y PB para la PA; equivalencias a ingredientes definidos en FEDNA (2019): PA en referencia al PA parcialmente desengrasada; ST en referencia a ST al 15% en almidón; AG en referencia a AG al 15,2% de PB; C referencia al 9,6% de PB.

En cuanto a los parámetros obtenidos de la FR *in vitro* de los ingredientes, la PA presentó un ritmo de digestión ("c") mayor respecto al resto de los ingredientes (0,09 h⁻¹, P = 0,001), difiriendo de lo encontrado en bibliografía, con valores comprendidos entre los 0,057 - 0,065 h⁻¹ en estudios *in vitro* (Navarro Marcos, 2019) y los 0,071 - 0,075 h⁻¹ en estudios *in vivo* (Martín García et al. 2004) con distintos tipos de orujo. El valor de la producción potencial de gas ("A"), la PG acumulada tras 24 h de fermentación (PG24), la EM y la DMO fueron inferiores en la PA respecto al resto de las materias primas (A=118 mL, PG24=92,0 mL GP/g MS, EM=5,37 MJ/kg MS, DMO=360 g MOd/kg MS, P=0,001) y coinciden con los valores obtenidos por Marcos et al. (2019a). Tal inferioridad podría ser consecuencia del elevado contenido en FAD y LAD, y bajo en CNE de la PA, lo que supone una menor PG que conllevaría a que la estimación de la EM y de la DMO sea menor. De nuevo, la AG fue el ingrediente más parecido a la PA en términos de cinética de PG.

A pesar de la subestimación observada en los valores de EM estimados para la PA y el resto de ingredientes analizados, estos se utilizaron para poder comparar entre las diferentes materias primas. Esto podría deberse a los bajos registros de PG24, posiblemente influenciados por la relación 1:3 entre el inóculo de LR y el buffer empleada en este estudio, en contraste con la proporción 1:2 utilizada en otras investigaciones (Kumar et al. 2015). Comparando la EM obtenida para las materias primas distintas a la PA (AG, ST, CS, PR y C) con los valores consensuados en FEDNA (2019), se estima que la subestimación de la EM es de 1,34 ($\pm 0,15$) veces. Al aplicar esta corrección a la PA, su EM resultaría ser 7,18 MJ/kg MS, un valor inferior a los 9,00 MJ/kg MS asignados por FEDNA al orujo de aceituna. A pesar de ello, nuestro resultado fue superior al encontrado en otros estudios (Al Masri, 2003) que obtuvieron un valor de EM de 4,2 MJ/kg de MS para la PA.

Atendiendo a los valores de concentración de CH₄ a las 6 y 24 h, se observaron diferencias significativas entre los distintos ingredientes, con el valor menor para la PA en comparación con el resto ($P < 0,05$). Al expresar la producción de CH₄ respecto a la MO digestible, se pudo corroborar el valor inferior para la PA (10,1 ml CH₄/g MOd), indicando un posible efecto antimetanogénico de esta que podría estar relacionado, por una parte, con la presencia de metabolitos secundarios en la PA, como los taninos, entre otros. Estos compuestos tendrían la capacidad de reducir la actividad de bacterias celulolíticas de forma que favorecerían la formación de propionato respecto a la de acetato, reduciendo así la tasa acetato: propionato y la formación de CH₄ (Lee et al. 2021). Además, este efecto antimetanogénico podría estar condicionado por el elevado contenido en ácido oleico presente en la PA, que al ser insaturado podría estar afectando por una parte al funcionamiento normal de los microorganismos ruminales, de forma más concreta, a las bacterias fibrolíticas y por otra parte, generando un incremento en la biohidrogenación ruminal. Ambos factores podrían estar ocasionando la disminución en la concentración de CH₄ (Yang et al. 2022).

4.2 Evaluación del efecto de la inclusión de PA en el concentrado

La PA se incorporó en distintas proporciones (Tabla 3) a un pienso comercial formulado para caprino lechero. Para ello, se ajustaron el resto de los

ingredientes logrando que las dietas experimentales estuviesen equilibradas entre sí desde el punto de vista nutricional. No obstante, cabe indicar que, cuando la PA se incorporó al 15 %, existieron variaciones en PB, EE y fibras, así como del valor energético, que indicaban un valor nutritivo más limitado. Si comparamos los valores de valor nutritivo obtenidos de FEDNA (2019), empleando los valores individuales de cada uno de los ingredientes que componen las dietas, con los derivados de nuestro experimento 2 (Tabla 4), se observó que, a pesar de las variaciones en la composición antes citadas, no se encontraron diferencias significativas en los distintos parámetros evaluados ($P > 0,05$). Las estimaciones de la EM en este experimento reflejaron valores inferiores a los de FEDNA (2019) en una proporción $1,66 (\pm 0,04)$. No obstante, se obtuvieron valores numéricamente mayores de EM y DMO para las inclusiones de PA de 11,5% (EM=6,28 MJ/kg MS; DMO= 430 g MOd/g MS) y 15% (EM=6,24 MJ/kg MS; DMO= 428 g MOd/g MS). Estos resultados pueden compararse con los descritos en la revisión de Fernández Mayer (2021), quién concluyó que, debido al alto contenido en LAD, se podría incluir la PA dentro de la dieta siempre que no supere el 15-20 g PA/100 g MS, con el objetivo de evitar el detrimento de la FR.

Los niveles de N-NH₃ tampoco mostraron diferencias significativas entre los porcentajes de inclusión, lo que indica que aparentemente no hubo una variación de la degradación de la PB. En el caso del lactato sí que se pudo observar una tendencia ($P=0,068$) a aumentar cuando se incorporó un 15% de PA, lo cual puede indicar que, a este nivel de inclusión, se podría inducir un descenso del pH ruminal en condiciones *in vivo*, es decir, en un sistema no tamponado como el de nuestro experimento. De igual manera, tanto la concentración de AGV totales como las proporciones molares de los AGV individuales analizados tampoco presentaron diferencias significativas entre los niveles de inclusión. Estos resultados fueron similares a los encontrados en otros estudios como los de Estaún et al. (2014) donde la inclusión de la PA hasta un 20% en el concentrado no reflejó diferencias en parámetros ruminales como el pH, N-NH₃ o AGV.

Tabla 3. Composición en ingredientes de las dietas experimentales con distintos porcentajes de inclusión de la PA y empleadas en el experimento *in vitro*

Ingredientes (g/kg)	Nivel de inclusión de la PA (%)				
	0	5	10	11,5	15
PA	0	50	100	115	150
Salvado	280	231	250	250	250
Harina de soja	119	105	134	175	160
Cebada	118	153	81,9	211	176
Maíz	90,0	0,00	149	0,00	0,00
Harina de girasol	71,9	111	62,8	26,0	41,3
Trigo blando	70,0	150	150	150	150
Cascarilla de soja	70,0	75,2	0,00	0,00	0,00
Alfalfa granulada	70,0	0,00	0,00	0,00	0,00
Pulpa de remolacha	50,0	57,8	0,00	0,00	0,00
Melaza de remolacha	20,0	20,0	20,0	20,0	20,0
Carbonato cálcico	15,2	12,8	14,1	13,6	12,7
Grasa bypass	10,0	15,0	20,0	20,0	20,0
Bicarbonato sódico	5,00	5,00	5,00	5,00	5,00
Corrector mineral y vitamínico	3,00	3,00	3,00	3,00	3,00
Oxido de magnesio	2,00	2,00	2,00	2,00	2,00
Sal	2,52	2,46	2,23	1,99	1,75
Aceite de soja	2,00	6,57	4,83	6,83	7,38
Sepiolita	1,15	1,00	1,00	1,00	1,00
Composición (g/kg MS)					
MS ¹	887	892	888	889	890
Cenizas ¹	77,5	75,3	76,2	78,1	79,4
PB ¹	167	166	164	177	175
EE ¹	34,0	38,7	44,9	45,0	45,0
FB ¹	113	122	90,2	91,1	104
FND ¹	271	279	230	237	256
FAD ¹	138	143	109	110	126
Almidón ¹	243	240	296	266	248
Azúcares ¹	39,1	38,0	35,8	36,9	36,1
Valor Nutritivo					
UFL (kcal/kg) ¹	0,91	0,91	0,91	0,91	0,88
PB_INDEG ¹	4,91	4,90	5,16	5,50	5,50
PB_SOLUBLE ¹	3,89	3,84	3,47	3,68	3,66
PBDIG (Coef.) ¹	68,5	67,9	65,0	66,9	65,9
PDIA (%) ¹	4,84	4,60	4,94	5,18	5,03
PDIE (%) ¹	9,76	9,52	9,36	9,87	9,52
PDIN (%) ¹	11,5	11,2	11,2	12,0	11,7
CNE (%) ¹	44,9	44,2	48,9	46,6	44,8
EM (MJ/kg MS) ¹	10,3	10,3	10,3	10,3	9,94
ENL (MJ/kg MS) ¹	6,62	6,64	6,62	6,61	6,38

MS: materia seca; PB: proteína bruta; EE: extracto etéreo; FB: fibra bruta; FND: fibra neutro detergente; FAD: fibra ácido detergente; UFL: unidades forrajeras lecheras; PB_INDEG: proteína bruta indigestible; PB_SOLUBLE: proteína bruta soluble; PBDIG: proteína bruta digestible; PDIA: proteína digestible en intestino delgado de origen alimenticio; PDIE: proteína digestible en intestino delgado procedente de la energía; PDIN: proteína digestible en intestino delgado si el nitrógeno disponible en rumen es limitante; CNE: carbohidratos no estructurales; EM: energía metabolizable; ENL: energía neta leche. 1: los datos han sido obtenidos de las tablas FEDNA (2019).

Tabla 4. Parámetros de la fermentación ruminal *in vitro* de las dietas experimentales con los distintos niveles de inclusión de la PA

	Nivel de inclusión de la PA (%)					EEM	P-valor
	0	5	10	11,5	15		
NH ₃ -N, (mg/100 mL)	12,2	13,7	13,2	12,8	13,4	0,437	0,948
Lactato (mmol/L)	7,22	6,91	6,62	7,30	8,68	0,211	0,068
AGV totales (mmol/L)	51,0	52,3	52,0	50,9	50,1	1,19	0,945
Acético (%)	62,3	62,3	61,9	62,1	62,3	0,274	0,993
Propiónico (%)	19,3	19,3	19,0	19,0	19,2	0,244	0,998
Isobutírico (%)	1,62	1,60	1,57	1,58	1,59	0,025	0,996
Butírico (%)	12,3	12,2	13,1	12,8	12,5	0,241	0,880
Isovalérico (%)	2,40	2,40	2,36	2,40	2,41	0,047	0,999
Valérico (%)	2,12	2,12	2,04	2,12	2,11	0,051	0,998
Acetato:propionato	3,25	3,24	3,28	3,29	3,28	0,052	0,999
PG24 (mL GP/g MS)	138	142	142	144	143	1,83	0,872
CH ₄ (mL CH ₄ /mL GP)	0,148	0,158	0,160	0,143	0,138	0,003	0,111
CH ₄ (mL CH ₄ /g MS)	20,6	22,6	22,8	20,7	19,8	0,579	0,450
CH ₄ /AGV (mL CH ₄ /mmol AGV)	4,02	4,24	4,39	4,07	4,05	0,086	0,670
CH ₄ /DMO (ml CH ₄ /g MOd)	49,5	53,5	54,2	48,0	46,3	1,39	0,388
EM (MJ/kg MS)	6,04	6,15	6,15	6,28	6,24	0,048	0,569
DMO (g MOd/kg MS)	416	422	420	430	428	3,06	0,600

AGV: Ácidos grasos volátiles; PG24: producción de gas acumulada a las 24 h; GP: gas producido; EM: energía metabolizable; DMO: digestibilidad de la materia orgánica; MOd: materia orgánica digerida.

5. CONCLUSIÓN

La PA en estudio, a pesar de presentar una menor capacidad fermentativa y de aporte de nutrientes que otros ingredientes convencionales empleados para la elaboración de piensos para rumiantes, parece no ocasionar detrimento de la FR cuando se incluye en el pienso en un porcentaje de hasta el 15%. Además, cuenta con un perfil graso que justificaría realizar futuros estudios *in vivo* en condiciones prácticas para así considerar el impacto de la PA sobre factores como la digestibilidad, la ingesta, la ganancia de peso, la producción de leche, la composición nutricional de la leche, y su perfil lipídico. Esto permitiría una caracterización más completa de este ingrediente, facilitando su uso práctico en la formulación de piensos para pequeños rumiantes en producción, para así ampliar la oferta de ingredientes alternativos, de forma que se vea robustecida la capacidad de implementación de la economía circular en el sector y, por ende, la sostenibilidad del mismo al reducir la huella ambiental de la cadena de producción alimentaria.

Fuentes de financiación: Este trabajo presenta parte de los resultados del Grupo Operativo BIORUMIOLI N.º EXPEDIENTE: GOPG-MA-20-0001, que fue financiado a través de los Fondos Europeos Agrícolas de Desarrollo Rural (FEADER) y cofinanciado por la Consejería de Agricultura, Pesca, Agua y Desarrollo Rural de la Junta de Andalucía, de la convocatoria de Grupos Operativos Regionales de la Asociación Europea de Innovación (AEI) en Materia de Productividad y Sostenibilidad Agrícola de 2020.

REFERENCIAS

- ALBURQUERQUE, J.A., GONZÁLVEZ, J., GARCÍA, D., CEGARRA, J., (2004). Agrochemical characterisation of “alperujo”, a solid by-product of the two-phase centrifugation method for olive oil extraction. *Bioresour. Technol.* 91, 195–200. doi: [https://doi.org/10.1016/S0960-8524\(03\)00177-9](https://doi.org/10.1016/S0960-8524(03)00177-9).
- AL-MASRI, M. (2003) An *In vitro* Evaluation of Some Unconventional Ruminant Feeds in Terms of the Organic Matter Digestibility, Energy and Microbial Biomass. *Tropical Animal Health and Production* 35, 155–167. doi: <https://doi.org/10.1023/A:1022877603010>.
- ARCO-PÉREZ, A., RAMOS-MORALES, E., YÁÑEZ-RUIZ, D.R., ABECIA, L., MARTÍN-GARCÍA, A.I., (2017). Nutritive evaluation and milk quality of including of tomato or olive by-products silages with sunflower oil in the diet of dairy goats. *Anim. Feed Sci. Technol.* 232, 57–70. doi: <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2017.08.008>.
- CHEN, X., YAN, F., LIU, T., ZHANG, Y., LI, X., WANG, M., ZHANG, C., XU, X., DENG, L., YAO, J., WU, S., (2022). Ruminal Microbiota Determines the High-Fiber Utilization of Ruminants: Evidence from the Ruminal Microbiota Transplant. *Microbiol. Spectr.* 10, doi: <https://doi.org/10.1128/spectrum.00446-22>.
- CORREDDU, F., LUNESU, M.F., BUFFA, G., ATZORI, A.S., NUDDA, A., BATTACONE, G., PULINA, G., (2020). Can Agro-Industrial By-Products Rich in Polyphenols be Advantageously Used in the Feeding and Nutrition of Dairy Small Ruminants. *Animals* 10, 131. doi: <https://doi.org/10.3390/ani10010131>.
- EL OTMANI, S., CHEBLI, Y., CHENTOUF, M., HORNICK, J.-L., CABARAUX, J.-F., (2021). Effects of Olive Cake and Cactus Cladodes as Alternative Feed Resources on Goat Milk Production and Quality. *Agriculture* 11, 3. doi: <https://doi.org/10.3390/agriculture11010003>.
- ESTAÚN J., DOSIL J., AL ALAMI A., GIMENO A., DE VEGA A., (2014) Effects of including olive cake in the diet on performance and rumen function of beef cattle. *Animal Production Science* 54, 1817-1821. doi: <https://doi.org/10.1071/AN14352>.

- FARIAS KOVAC, C., MARCOS, C.N., GARCÍA REBOLLAR, P., RODRÍGUEZ CORTÉS, C.A., CARRO TRAVIESO, M.D., BLAS BEORLEGUI, J.C., (2017). Composición química y digestibilidad *in vitro* en porcino y rumiantes de subproductos de la aceituna, in: AIDA-ITEA, XVII Jornadas sobre Producción Animal. Comunicaciones, Zaragoza.
- FERNANDEZ MAYER, A., (2021). Actualización sobre el uso de orujos de aceituna en alimentación animal para carne y leche = Olive pomace use on animal feeding for meat and milk production: a review, Revista del Foro de la Alimentación, la Nutrición y la Salud 3 (1) : 31-39.
- GIRIDHAR, K., SAMIREDDYPALLE, A., (2015). Impact of Climate Change on Forage Availability for Livestock, in: Sejian, V., Gaughan, J., Baumgard, L., Prasad, C. (Eds.), Climate Change Impact on Livestock: Adaptation and Mitigation. Springer India, New Delhi, (pp. 97–112). doi: https://doi.org/10.1007/978-81-322-2265-1_7.
- GOLDER, H.M., LEAN, I.J., (2024). Invited review: Ruminant acidosis and its definition—A critical review. J. Dairy Sci. 107, 10066–10098. doi: <https://doi.org/10.3168/jds.2024-24817>.
- JALAL, H., GIAMMARCO, M., LANZONI, L., AKRAM, M.Z., MAMMI, L.M.E., VIGNOLA, G., CHINCARINI, M., FORMIGONI, A., FUSARO, I., (2023). Potential of Fruits and Vegetable By-Products as an Alternative Feed Source for Sustainable Ruminant Nutrition and Production: A Review. Agriculture 13, 286. doi: <https://doi.org/10.3390/agriculture13020286>.
- ORGANIZACIÓN DE LAS NACIONES UNIDAS PARA LA ALIMENTACIÓN Y LA AGRICULTURA (FAO), (2009). La agricultura mundial en la perspectiva del año 2050. Foro de expertos de alto nivel, Roma. Recuperado de: https://www.fao.org/fileadmin/templates/wsfs/docs/Issues_papers/Issues_papers_SP/La_agricultura_mundial.pdf. [Consultado el 14 de diciembre de 2024].
- LEE, S.J., KIM, H.S., EOM, J.S., CHOI, Y.Y., JO, S.U., CHU, G.M., LEE, Y., SEO, J., KIM, K.H., LEE, S.S., (2021). Effects of Olive (*Olea europaea* L.) Leaves with Antioxidant and Antimicrobial Activities on *In Vitro* Ruminant Fermentation and Methane Emission. Animals 11, 2008. doi: <https://doi.org/10.3390/ani11072008>.

- MAPA, (2022). Resumen anual de la alimentación. Recuperado de:
<https://www.mapa.gob.es/es/alimentacion/temas/consumo/tendencias/panel-de-consumo-alimentario/resumen-anual-de-la-alimentacion>.
- MARCOS, C.N., DE EVAN, T., GARCÍA-REBOLLAR, P., DE BLAS, C., CARRO, M.D., (2019) a. Influence of storage time and processing on chemical composition and *in vitro* ruminal fermentation of olive cake. J. Anim. Physiol. Anim. Nutr. 103, 1303–1312. doi: <https://doi.org/10.1111/jpn.13149>.
- MARCOS, C.N., GARCÍA-REBOLLAR, P., DE BLAS, C., CARRO, M.D., (2019) b. Variability in the Chemical Composition and *In Vitro* Ruminal Fermentation of Olive Cake By-Products. Animals 9, 109. doi:<https://doi.org/10.3390/ani9030109>.
- MARTÍN GARCÍA, A.I., YÁÑEZ RUIZ, D.R., MOUMEN, A., MOLINA ALCAIDE, E., (2004). Effect of polyethylene-glycol on the chemical composition and nutrient availability of olive (*Olea europaea* var. *europaea*) by-products. Anim. Feed Sci. Technol. 114, 159–177. doi: <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2004.01.003>.
- NAVARRO MARCOS, C., (2019). Nutritive evaluation of olive cake and tomato pomace for small ruminant feeding (PhD Thesis). Universidad Politécnica de Madrid. doi: <https://doi.org/10.20868/UPM.thesis.57510>.
- RUGET, FRANÇOISE & CLASTRE, P. & MOREAU, JEAN-CHRISTOPHE & CLOPPET, E. & SOUVERAIN, F. & LACROIX, B. & LORGEOU, J.,(2012). Possibles consequences of climate changes on forage production in France. II. Some examples of livestock systems. Fourrages. 243-251.
- 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. Anim. Feed Sci. Technol. 48, 185–197. doi: [https://doi.org/10.1016/0377-8401\(94\)90171-6](https://doi.org/10.1016/0377-8401(94)90171-6).
- YANG, Z., LIU, S., XIE, T., WANG, Q., WANG, Z., YANG, H., LI, S., WANG, W., (2022). Effect of Unsaturated Fatty Acid Ratio *In Vitro* on Rumen Fermentation, Methane Concentration, and Microbial Profile. Fermentation 8, 540. doi: <https://doi.org/10.3390/fermentation8100540>.

ZAIRA PARDO, JUAN MANUEL PALMA-HIDALGO, ALBERTO MANUEL SÁNCHEZ-GARCÍA, ANTONIO IGNACIO MARTÍN-GARCÍA, (2024). Watermelon Plant Silage: A viable alternative to alfalfa hay for feeding Murciano-Granadina goats. Preprint. doi: [10.20944/preprints202407.1726.v2](https://doi.org/10.20944/preprints202407.1726.v2).