



BENEMÉRITA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE PUEBLA
COMPLEJO REGIONAL CENTRO, SEDE LOS REYES DE JUÁREZ.
INGENIERÍA AGRONÓMICA Y ZOOTECNIA

**USO DE UN DETECTOR LÁSER PARA MEDIR EMISIONES DE METANO EN
GANADO BOVINO LECHERO**

AMÉRICA CELESTE SANDOVAL MUÑOZ

TESIS

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

LICENCIADA EN INGENIERÍA AGRONÓMICA Y ZOOTECNIA

DIRECTORA

DRA. JENNIFER PÉREZ MARTÍNEZ

CODIRECTOR EXTERNO

PH. D. MARIO ANTONIO COBOS PERALTA

Los Reyes de Juárez, Puebla, Puebla, mayo 2025

**USO DE UN DETECTOR LÁSER PARA MEDIR EMISIONES DE METANO EN
GANADO BOVINO LECHERO**

La presente tesis, titulada: “**USO DE UN DETECTOR LÁSER PARA MEDIR EMISIONES DE METANO EN GANADO BOVINO LECHERO**” realizada por la alumna: **América Celeste Sandoval Muñoz**, ha sido revisada y aprobada por el siguiente Consejo Particular, para obtener el título de:

LICENCIADA EN INGENIERÍA AGRONÓMICA Y ZOOTECNIA

CONSEJO PARTICULAR

DIRECTORA INTERNA



D. C. JENNIFER PÉREZ MARTÍNEZ

DIRECTOR EXTERNO



Ph. D. MARIO ANTONIO COBOS PERALTA

ASESOR



D. C. GILBERTO CASTILLO LUNA

ASESOR



D. C. ARNULFO VICENTE PÉREZ

Los Reyes de Juárez, Puebla, a 22 de mayo del 2025.

DEDICATORIA

A mis papás, por todo el esfuerzo que realizaron para culminar mis estudios, por siempre apoyarme en todo, creer en mí y nunca dejarme sola.

A mi hermano, porque a pesar de todo siempre estuvo para mí y me apoyó en todo momento.

AGRADECIMIENTOS

A Dios por la vida y por haberme permitido llegar hasta aquí.

A mis papás Aurelio Sandoval Canales y Ortencia Muñoz Pérez, gracias por siempre alentarme a seguir adelante y nunca darme por vencida, por enseñarme el valor de las cosas y por darme todo lo que he necesitado, por celebrarme cada logro por muy pequeño que sea, por nunca dejarme sola y siempre estar conmigo para todo, por apoyarme en todo momento y ser un ejemplo a seguir. Mil gracias por todo. Los quiero mucho.

A mi hermano Ariel Alexis Sandoval Muñoz por siempre aconsejarme y desearme el mejor de los caminos, gracias porque a pesar de ser el menor siempre me has cuidado y protegido de cualquier cosa como si fueras el mayor. Por ser un ejemplo para mí de superación, por nunca dejarme sola y siempre estar ahí para mí. Te quiero muchísimo.

A mi abuelita Lian, por el apoyo que me ha dado y todo lo que me ha brindado.

A mi Universidad por haberme permitido vivir una gran etapa de mi vida.

A mis amigos, Norma, Manuel y Margarita gracias por hacer más amena la vida universitaria, por estar para mí cuando más lo necesite, por darme su amistad y confianza.

A la profa Jenny por dedicar su tiempo y esfuerzo en la realización de esta tesis, y brindarme toda la ayuda posible, además por ser de las profas más chidas que he conocido.

Al Dr. Cobos, por permitirme realizar esta investigación en su laboratorio, por todo el apoyo y tiempo brindado en el COLPOS, a los trabajadores del laboratorio Don Agus y Don Jorge y la maestra Isa por toda la ayuda que me dieron y por su amistad y los trabajadores de la granja del turno de la tarde y del fin de semana.

Gracias a todos por todo.

CONTENIDO

Índice	Pág.
DEDICATORIA	iii
AGRADECIMIENTOS	iv
ÍNDICE DE CUADROS	ix
ÍNDICE DE FIGURAS	x
RESUMEN GENERAL	xii
GENERAL ABSTRAC	xiii
INTRODUCCIÓN GENERAL	1
MARCO TEÓRICO	2
Calentamiento global	2
Gases efecto invernadero	2
El ganado bovino y las emisiones de gases efecto invernadero	3
Fermentación entérica: el rumen y la producción de metano	3
El rumen	3
Microorganismos en el rumen	4
<i>Archaea</i> metanogénicas y su función en el rumen	4
Producción de metano en el rumen	4
Métodos para la medición de gas metano <i>in vivo</i>	5
Cámaras de respiración	5
Hexafluoruro de azufre (SF ₆)	6
LaserMethane mini	7
BIBLIOGRAFÍA	8
CAPÍTULO 1: CONCENTRACIÓN DE METANO EN EL RUMEN DE UNA VACA CON CÁNULA ABIERTA	14
INTRODUCCIÓN	14
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	15
JUSTIFICACIÓN	15
OBJETIVOS	15
General	15
Específico	15
HIPÓTESIS	16

General	16
Específico.....	16
MATERIAL Y MÉTODOS	16
Ubicación, animales y equipo	16
Preparación del equipo.....	16
Sujeción del animal	17
Mediciones y recolecta de datos	17
Análisis estadístico	18
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	18
CONCLUSIÓN.....	19
BIBLIOGRAFÍA.....	19
CAPÍTULO 2: ESTIMACIÓN DE METANO EN EL MORRO DE VACAS LECHERAS CON EL LMn	21
INTRODUCCIÓN.....	21
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	22
JUSTIFICACIÓN	22
OBJETIVOS	22
HIPÓTESIS	22
MATERIAL Y MÉTODOS	23
Ubicación, animales y equipo	23
Toma de lecturas.....	23
Análisis estadístico	24
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	24
CONCLUSIÓN.....	26
BIBLIOGRAFÍA.....	27
CAPÍTULO 3: USO DE UN DETECTOR LÁSER PARA ESTIMAR CONCENTRACIÓN DE METANO EN BECERROS.....	28
INTRODUCCIÓN.....	28
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	28
JUSTIFICACIÓN	29
OBJETIVO.....	29
HIPÓTESIS	29
MATERIAL Y MÉTODOS	29

Ubicación, animales y equipo	29
Toma de lecturas.....	30
Análisis estadístico	30
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	31
CONCLUSIÓN.....	32
BIBLIOGRAFÍA.....	32
CAPÍTULO 4: USO DE UN DETECTOR LÁSER PARA ESTIMAR CH₄ EN TRAMPAS DE SAL, BOLSAS DE BIOGÁS Y MANGUERAS DE TYGON.....	34
INTRODUCCIÓN.....	34
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	34
JUSTIFICACIÓN	35
OBJETIVOS	35
General	35
Específicos.....	35
HIPÓTESIS	35
General	35
Específicos.....	35
MATERIAL Y MÉTODOS	36
Ubicación y equipo	36
Llenado de trampas de sal	36
Elaboración de trampa de gas con manguera de Tygon y llenado con CH ₄	37
Llenado de bolsas de biogás	38
Toma de lecturas.....	39
Análisis estadístico	39
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	40
CONCLUSIÓN.....	41
RECOMENDACIONES.....	42
BIBLIOGRAFÍA.....	42
CAPÍTULO 5: USO DE UN DETECTOR LÁSER PARA ESTIMAR LAS CONCENTRACIONES DE METANO EN EL CUERPO DE VACAS CON CÁNULA RUMINAL	44
INTRODUCCIÓN.....	44
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	44

JUSTIFICACIÓN	45
OBJETIVOS	45
General	45
Específico.....	45
HIPÓTESIS	45
General	45
Específica.....	45
MATERIAL Y MÉTODOS	46
Ubicación, animales y equipo	46
Equipo.....	46
Alimentación y manejo	46
Mediciones flanco izquierdo y flanco derecho	47
Análisis estadístico	49
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	49
CONCLUSIÓN.....	52
BIBLIOGRAFÍA.....	52
CAPÍTULO 6: USO DE UN EQUIPO LÁSER PARA ESTIMAR LAS EMISIONES DE METANO EN EL RUMEN DE VACAS CON CÁNULA RUMINAL	53
INTRODUCCIÓN.....	53
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	53
JUSTIFICACIÓN	54
OBJETIVOS	54
General	54
Específicos.....	54
HIPÓTESIS	54
General	54
Específicas.....	54
MATERIAL Y MÉTODOS	55
Alimentación y manejo	55
Preparación del tapón de cánula	56
Preparación de las bolsas de biogás	57
Recolecta del gas	58
Medición de gas metano en el orificio ruminal	59

Medición de gas metano en bolsas de biogás	60
Análisis estadístico	61
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	62
CONCLUSIÓN.....	63
RECOMENDACIONES.....	63
BIBLIOGRAFÍA.....	64

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro	Pág.
1. Medias de las lecturas realizadas con el equipo LMm a diferentes distancias en una vaca fistulada.....	18
2. Medias de las concentraciones de metano, realizadas a 1 m del morro de vacas lecheras con el LaserMethane mini.....	25
3. Características de los becerros.....	30
4. Concentraciones de metano en el morro de becerros.....	32
5. Captación de gas metano comercial con maguera de Tygon, trampa de sal y bolsa de biogás a diferentes concentraciones con el equipo LaserMethane mini (LMm).....	41
6. Características de las vacas secas.....	46
7. Dieta por día para las vacas secas.....	47
8. Medias totales de las concentraciones de metano del flanco izquierdo de las vacas secas canuladas con el equipo LMm.....	50
9. Medias totales de las concentraciones de metano del flanco derecho de las vacas secas canuladas con el equipo LMm.....	51
10. Características de las vacas en experimentación.....	55
11. Dieta de las vacas con cánula ruminal.....	55
12. Medias de las concentraciones de metano entérico obtenidas con el LaserMethane mini en vacas con cánula ruminal antes del consumo de alimento y 4 h después.....	62
13. Medias de las concentraciones de metano entérico obtenidas con el LaserMethane mini en bolsas Tedlar en ayuno y 4 h posteriores al consumo de alimento.....	63

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura

Pág.

1. Toma de lecturas directas en el orificio ruminal de una vaca.	17
2. Toma de lecturas con el detector láser en la región del morro de vacas en producción lechera.....	23
3. Comportamiento de las concentraciones de metano en vacas en producción.	25
4. Concentraciones de metano en la vaca con el valor más bajo y alto.	26
5. Toma de lecturas en la región del morro de becerros.	30
6. Comportamiento de las concentraciones de metano en becerros.	31
7. Llenado de trampa de sal con CH ₄	36
8. Colocación de trampas de sal sobre la gradilla.	37
9. Posición de las trampas de Tygon sobre la gradilla.	38
10. Llenado de bolsas de biogás con CH ₄	38
11. Muestra de la toma de datos y posición del láser.....	39
12. Regiones de medición del lado derecho de las vacas	47
13. Regiones de medición del lado izquierdo de las vacas.	48
14. Posición del equipo LMm para medir las concentraciones de metano del flanco izquierdo de las vacas secas canuladas.	48
15. Posición del equipo LMm para medir las concentraciones de metano del flanco derecho de las vacas secas canuladas.....	49
16. Cepillado de las vacas canuladas para su adiestramiento.	56
17. Tapones preparados para las cinco vacas con cánula ruminal.	57
18. Preparación de los tapones de las cánulas para la extracción de gas entérico.	57
19. Preparación de las bolsas de biogás para el llenado con gas extraído del rumen en vacas con cánula ruminal.....	58
20. Extracción del gas metano en vacas canuladas.....	58
21. Introducción del gas extraído del rumen de las vacas canuladas a las bolsas de biogás.	59
22. Toma de lecturas con el LMm en las vacas con cánula ruminal.	59

23. Colocación de la bolsa de biogás dentro de la campana de flujo laminar para la medición con el LMm.	60
24. Toma de lecturas con el equipo LMm en bolsas de biogás llenadas con metano entérico de vacas con cánula ruminal.	61

RESUMEN GENERAL

El metano es un gas efecto invernadero con un potencial de calor 25 a 28 veces mayor que el CO₂, en la ganadería, la principal fuente de gases efecto invernadero son los bovinos ya que en ellos se da el proceso de fermentación ruminal que a su vez trae consigo la producción de CH₄, éste como resultado de la fermentación de los carbohidratos. Se usaron cinco vacas con cánula ruminal de la raza Holstein y Jersey. Se recolectó gas en bolsas Tedlar, dos veces al día por vaca durante 10 d, la primera antes del consumo de alimento y la segunda 4 h después de éste; posteriormente se realizó la medición de gas directo del rumen, con el LaserMethane mini (LMm), en posición horizontal en dirección a la parte más alta del rumen, se tomaron dos lecturas por día durante 10 d a una distancia de 1 m por un periodo de 10 semanas. Las mediciones que se realizaron con el equipo a cánula abierta no mostraron diferencias significativas ($P \geq 0.05$). Del mismo modo los resultados con las bolsas Tedlar no presentaron diferencias significativas ($P \geq 0.05$), sin embargo, después de la alimentación el CH₄ incrementó 19.72%. Se concluye que las concentraciones de CH₄ entérico no se modifican durante el ayuno y 4 h posteriores al consumo de alimento cuando se mide con el LaserMethane mini en dirección al rumen y al extraer el gas y almacenarlo en bolsas Tedlar.

GENERAL ABSTRAC

Methane is a greenhouse gas with a heat potential 25 to 28 times greater than CO₂. In livestock farming, the main source of greenhouse gases is cattle since the ruminal fermentation process occurs in them, which in turn It brings with it the production of CH₄, this as a result of the fermentation of carbohydrates. Five Holstein and Jersey cows with rumen cannula were used. Gas was collected in Tedlar bags, twice a day per cow for 10 d, the first before feed consumption and the second 4 h after it; Subsequently, direct gas measurement of the rumen was carried out, with the Laser Mtane mini (LMm), in a horizontal position towards the highest part of the rumen, two readings were taken per day for 10 days at a distance of 1 m by a period of 10 seconds. The measurements that were carried out with the open cannula equipment did not show significant differences ($P \geq 0.05$). Similarly, the results with Tedlar bags did not present significant differences ($P \geq 0.05$), however, after feeding CH₄ increased 19.72%. It is concluded that enteric CH₄ concentrations do not change during fasting and 4 h after feed consumption when measured with the LaserMtane mini in the direction of the rumen and when the gas is extracted and stored in Tedlar bags.

INTRODUCCIÓN GENERAL

Los gases de efecto invernadero (GEI) pueden ser tanto de origen natural o derivados de la actividad del ser humano (origen antropogénico), estos GEI permiten el paso de la radiación infrarroja en la atmósfera terrestre, pero no permiten su salida, a este efecto se le conoce como efecto invernadero lo que provoca un aumento en la temperatura de la tierra (Bonilla y Lemus, 2012), los principales GEI son el dióxido de carbono (CO₂), el óxido nitroso (N₂O) y el metano (CH₄) (Ballesteros y Aristizabal, 2007).

El CH₄ es un GEI más abundante y con mayor impacto en la atmósfera más del 60% de este GEI se emite por actividades humanas (Motzka *et al.*, 2011). En comparación con el CO₂ el metano tiene un potencial de calentamiento de 25 a 28 veces mayor y un tiempo de residencia en el ambiente de 9 a 15 años (IPCC, 2013).

A nivel mundial el sector agropecuario juega un papel importante, ya que, es la principal fuente de las emisiones de CH₄, que provienen de la fermentación entérica, cultivos de arroz, quema de biomasa y los desechos de los animales (Bousquet *et al.*, 2006). La fermentación entérica se estima produce hasta el 37% del metano presente en el ambiente (Ballesteros y Aristizabal, 2007).

En la actualidad la cuantificación de las emisiones de metano entérico en rumiantes a nivel de campo es complicada y los equipos que se requieren para dicha práctica son muy costosos, por lo que se buscan dispositivos y técnicas más sencillas que ayuden a medir estas emisiones, tal es el caso del LaserMethane mini (LMm) es un detector portátil compacto para la detección de gas metano a una distancia segura (0-100 m), apuntando hacia la supuesta fuga utilizando tecnología láser. Ideal para su uso en entornos industriales, comerciales y de investigación. Se han hecho estudios de las mediciones de metano entérico de vacas lecheras con ayuda de detectores de metano láser como éste, asimismo está demostrado que estos cuantifican la dinámica del CH₄ en concentraciones exhaladas por vacas lecheras (Chagunda *et al.*, 2009). Sin embargo, en el laboratorio de microbiología ruminal se ha demostrado que este equipo presenta una alta variación en sus mediciones y que requiere más estudios para determinar su utilidad en investigaciones relacionadas con las emisiones de metano en rumiantes.

MARCO TEÓRICO

Calentamiento global

El cambio climático se refiere a las modificaciones de temperatura, precipitación e intensidad sobre el clima del planeta (Miller, 2007), además se le atribuye la acción directa o indirecta de la actividad humana que altera la composición de la atmosfera y la variabilidad natural del clima (Díaz, 2012).

En otras palabras, el cambio climático es la alteración del clima lo que trae como consecuencia la alteración de la temperatura, la precipitación y la intensidad de esta en el mundo es causada por la actividad humana y por la misma naturaleza; dentro de estas causas se encuentran las emisiones de gases de efecto invernadero (GEI) de origen natural y antropogénico (IPCC, 2013).

Gases efecto invernadero

se le denomina gases efecto invernadero (GEI) a los gases emitidos por las actividades antropogénicas (humanas) y de origen natural que se encuentran presentes en la atmosfera y absorben el calor para emitir radiación en determinadas longitudes de onda (Ballesteros y Aristizabal, 2007), esto provoca que no haya una salida del calor al espacio exterior y por consecuencia aumente la temperatura del planeta, a este fenómeno se le conoce como efecto invernadero (Hernández y Corona, 2018, Bonilla y Lemus, 2012), los principales GEI son el dióxido de carbono (CO₂), el óxido nitroso (N₂O) y el metano (CH₄).

Un problema de gran importancia que enfrentamos en la actualidad es el cambio climático que se asocia a la emisión de GEI provenientes principalmente de las actividades humanas. El CH₄ es un GEI más abundante y con mayor impacto en la atmosfera (Motzka *et al.*, 2011). En comparación con el CO₂ el metano tiene un potencial de calentamiento de 25 a 28 veces mayor y un tiempo de residencia en el ambiente de 9 a 15 años (IPCC, 2013) en su mayoría emitido principalmente por las actividades humanas (más del 60%) (Motzka *et al.*, 2011).

A nivel mundial el sector agropecuario juega un papel importante ya que es una fuente principal de las emisiones de CH₄, que provienen de la fermentación entérica, cultivos de arroz, quema de biomasa y los desechos de los animales (Bousquet *et al.*, 2006)

El ganado bovino y las emisiones de gases efecto invernadero

El sector agropecuario a nivel mundial es la principal fuente de las emisiones de CH₄, la fermentación entérica se estima que produce hasta el 37% de este gas presente en el ambiente (Ballesteros y Aristizabal, 2007), esto vuelve a la ganadería responsable del 53% total del CH₄ producido por el sector agropecuario (Charmley *et al.*, 2015).

Para el año 2013, en México las emisiones de gas provenientes de la ganadería fueron de 39.247 giga gramos (Gg), de esta cantidad el 97% emitida por la fermentación entérica y solo el 3% por el manejo de estiércol (SEMARNAT, 2013).

La producción de CH₄ tiene que ver con: la cantidad de alimento, composición, digestibilidad y la ingesta de alimento, todos estos son determinantes para la cantidad de CH₄ producido en el rumen (Bonilla y Lemus, 2012), además Johnson y Johnson (1995) mencionan que la cantidad de carbohidratos fermentados en el retículo-rumen y la relación de los ácidos grasos volátiles (AGV) son los principales factores responsables en la producción de CH₄, al mismo tiempo, las emisiones de CH₄ representan una pérdida de energía neta de 2 a 12% (Histrov *et al.*, 2015)

Unas de las prácticas más rápidas para mitigar la emisión de CH₄ entérico es la manipulación de la dieta y el manejo (Berra *et al.*, 2009). Para poder suprimir la metanogénesis se debe incluir en la dieta el uso de forrajes de alta calidad, mayor proporción de granos en la dieta, el uso de aditivos o la adición de acetatos o bacterias por mencionar algunas (Bonilla y Lemus, 2012).

Fermentación entérica: el rumen y la producción de metano

El rumen

El sistema digestivo del rumiante está desarrollado de tal forma que la fermentación microbiana se encarga de degradar los alimentos antes de quedar expuestos a las enzimas digestivas del animal (McDonald, 1966). Su estómago está compuesto de cuatro

compartimentos, los cuales son retículo, rumen, omaso y abomaso, siendo el rumen el lugar donde se llevan a cabo los principales procesos de fermentación (Tharwat *et al.*, 2012) lo que genera a su vez la producción de ácidos grasos volátiles (AGV), células microbianas, gases de CH₄ y CO₂ (McDonald, 1966; Hernández y Corona, 2018).

Microorganismos en el rumen

El rumen está compuesto por una amplia variedad de microorganismos conformado por bacterias, protozoos y hongos, estos se encuentran en un ambiente con condiciones anaerobias estrictas que actúan conjuntamente para degradar los alimentos (McDonald, 1966) de esta interacción animal-microorganismos se obtienen beneficios como lo son: el desdoblamiento de la celulosa, la digestión de hemicelulosa, el uso del nitrógeno no proteico (NNP) como fuente de proteína, una fuente de vitaminas hidrosolubles y vitamina K y cierta inmunidad al consumo de alimentos contaminados (Cobos y Shimada, 2015), esto a su vez da paso a la fermentación y a la liberación de los AGV que son uno de los factores principales para la producción de metano (Johnson y Johnson, 1995).

Archaea metanogénicas y su función en el rumen

Dentro de los microorganismos que se encuentran en el rumen, se encuentran las responsables de la producción de metano que son las Arqueas metanogénicas; dentro de éstas se pueden encontrar las *Methanobrevibacter ruminantium*, *Methanobacterium formicum*, *Methanomicrobium mobile* y *Methanosacina barkeri*. Aunque son incapaces de metabolizar la glucosa para la obtención de energía metabólica (ATP), estas toman el CO₂, H₂ y COOH que producen los demás microorganismos como resultado de la fermentación de carbohidratos y lo convierten en CH₄. Las arqueas son esenciales para evitar la acumulación de H⁺ y CO₂ lo cual elimina el peligro potencial de una acidosis metabólica (Cobos y Shimada, 2015), a su vez promueven el crecimiento de otras especies de bacterias y permiten que la fermentación sea más eficaz (Yokoyama y Johnson, 1993).

Producción de metano en el rumen

Los carbohidratos al ser fermentados dan productos finales como H₂ y CO₂ y AGV que a su vez ayuda a la producción de CH₄ en el rumen ya que éste se da mediante las siguientes reacciones:

- $\text{CH}_3\text{COO}^- + \text{H}^+ \rightarrow \text{CH}_4 + \text{CO}_2$
- $4\text{H}_2 + \text{CO}_2 \rightarrow \text{CH}_4 + 2\text{H}_2\text{O}$

Estas reacciones son realizadas por las *Archeas* metanogénicas (Moss *et al.*, 2000).

La producción de metano mayormente se produce en el rumen (87 a 95%) y el restante (5 a 13%) es producido en el intestino grueso (McCaughey *et al.*, 1997; Carro *et al.*, 2018), de este último el 89% aproximadamente se absorbe hacia la sangre y es expirado vía eructo a través de la boca y por los orificios nasales al pasar por los pulmones (McCaughey *et al.*, 1997).

La eliminación de metano inicia aproximadamente a las cuatro semanas de vida por vía eructo, cuando el retículo-rumen empieza a retener alimentos sólidos, lo que provoca un aumento en la fermentación conforme éste se desarrolla (Carmona *et al.*, 2005).

Las emisiones de metano entérico han generado un gran interés científico sobre las alternativas que pueden funcionar para disminuir la producción de metano en el rumen (metanogénesis) y así reducir su impacto en el cambio climático (Cobos y Shimada, 2015), a su vez se ha hecho la implementación de técnicas y métodos para la cuantificación del CH_4 entérico *in vivo* e *in vitro*.

Métodos para la medición de gas metano *in vivo*

Cámaras de respiración

Las cámaras de respiración para calorimetría indirecta de circuito abierto o cerrado están calibradas para ser precisas y exactas, se consideran “el estándar de oro” para la evaluación de nuevos métodos, en éstas el animal (en ocasiones más) es confinado durante 2 a 7 d (Garnsworthy, 2004), se utilizan para medir la producción total de gases emitidos por los animales dentro de estos están el metano, dióxido de carbono, consumo de oxígeno, y en algunos casos producción de hidrógeno (Garnsworthy *et al.*, 2019; Kelly *et al.*, 1994).

Constan de una cámara con conductos de entrada y salida del aire, un caudalímetro y un analizador de gases, e incluyen dispositivos que permiten administrar alimentos, agua o incluso realizar el ordeño de los animales (McDonald, 1966). Las emisiones de gas se

determinan por la medición del flujo de aire total calibrado por el sistema y la diferencia en la concentración entre el aire inspirado y exhalado (Carmona y Giraldo, 2005) además permiten regular las condiciones de temperatura y humedad.

A pesar de que permite realizar la medición continua de metano ya que el animal se encuentra confinado, aunque esto pudiera afectar al comportamiento alimentario al reducir el consumo de alimento además de que los costos de producción, funcionamiento, mano de obra mantenimiento y traslado de los animales son elevados (Johnson y Johnson, 1995; Garnsworthy *et al.*, 2019).

Hexafluoruro de azufre (SF₆)

Las emisiones de CH₄ de origen entérico pueden estimarse empleando la técnica indirecta basada en trazadores desarrollada por Johnson *et al.* (1994) al emplear el SF₆ como un gas marcador. Dicha técnica se basa en administrar bolos intraruminales que contienen SF₆ dentro de un tubo permeable (800mg para pequeños rumiantes, y 1200 mg para rumiantes grandes), que se administra a los animales por una sonda esofágica que llega al rumen y una vez ahí el bolo comienza a liberar lentamente SF₆ de 0.7 a 0.8 mg/d y 2.5 a 6.5 mg/d para pequeños y grandes rumiantes respectivamente, esto se realizó 15 d previos al inicio de la investigación (Berndt *et al.*, 2014).

La muestra de aire se toma cerca de las fosas nasales del animal por medio de un tubo sujeto a un bozal y conectado a un recipiente vacío que se le coloca alrededor del cuello o en la espalda de este. La muestra se debe tomar cada 24 h (con un mínimo de 4 muestras por animal) y reemplazar el recipiente por cada muestreo (Johnson *et al.*, 1994, Williams *et al.*, 2011, Lasseby *et al.*, 2011).

La cantidad de CH₄ producido está estimada a partir de la siguiente fórmula (Lasseby *et al.*, 2011) y por cromatografía de gases se determina el CH₄ y SF₆.

$$CH_4 (g/dia) = TLSF_6 \times \frac{(CH_4 M - CH_4 A)}{100} \times \frac{PM CH_4}{PM SF_6} \times 100$$

Donde:

TLSF₆: tasa de liberación de SF₆ (mg/día).

CH₄ M: concentración CH₄ (ppm, $\mu\text{mol mol}^{-1}$) en la muestra del animal.

CH₄ A: concentración CH₄ (ppm, $\mu\text{mol mol}^{-1}$) en la muestra del ambiente.

SF₆ M: concentración de SF₆ (ppt, pmol mol^{-1}) en la muestra del animal.

SF₆ A: concentración de SF₆ (ppt, pmol mol^{-1}) en la muestra del ambiente.

PM CH₄: peso molecular del metano, i.e. 16.

PM SF₆: peso molecular del SF₆, i.e. 146.

La técnica tiene como ventaja el uso de condiciones en pastoreo además de obtenerse información de forma individual por animal (Bonilla y Lemus, 2012), si bien, la técnica es menos invasiva que las cámaras de respiración el uso del aparato el manejo diario para el retiro de los recipientes podría traer consigo afectaciones en la ingesta y comportamiento de los animales, por otra parte, los costos de mano de obra, mantenimiento y cambio de recipiente y el análisis de laboratorio son elevados (Garnsworthy *et al.*, 2019).

LaserMethane mini

El LaserMethane mini (LMm) es un innovador detector portátil que permite medir el gas metano a distancia. Esto permite un fácil acceso a lugares de difícil acceso, como tuberías elevadas o instalaciones cerradas, y ayuda a mantener al operador alejado de posibles fuentes de fugas al utilizar espectroscopía de absorción infrarroja (IR); la densidad del metano se mide y se muestra en una pantalla retroiluminada clara en formatos numéricos y gráficos (Crowcon, 2020) además de ser un dispositivo con alta respuesta que al apuntar hacia las fosas nasales de un animal, mide la densidad de la columna de metano a lo largo del rayo láser al usar como media las partes por millón por metro ($\text{ppm} \times \text{m}$) (Garnsworthy *et al.*, 2019).

Investigaciones previas (Chagunda *et al.*, 2009) realizaron la primera investigación con relación al comportamiento del láser al ser utilizado en vacas lecheras, donde los autores concluyeron que hacía falta más investigación en cuanto al uso del láser; en otro estudio con ganado lechero, Chagunda y Yan (2011) demostraron un nivel fuerte de concordancia entre el láser y las cámaras calorimétricas de circuito abierto ($r= 0.8$,

P<0.001). Por otra parte, Chagunda *et al.* (2013) evaluaron con bovinos y ovinos el detector láser con una cámara de respiración de circuito abierto y encontraron una correlación en cuanto a los datos obtenidos entre ambos equipos al usar un valor umbral del cuantil de 75% obtuvieron un 95,4% y 93,4% de sensibilidad y especificidad del 96,5% y 78,7% reportados para vacas y ovejas.

También, Sorgs *et al.* (2018) compararon la producción de metano diaria de 11 vacas al usar un detector láser y el sistema GreenFeed donde obtuvieron un coeficiente de correlación de concordancia de 0.002 aunque al comparar las medias repetidas se encontraron con un coeficiente de 0.66.

Por su parte, Boré *et al.* (2022) evaluaron la distancia (2 y 3 m), el ángulo de medición (45° y 90°) y la presencia de un animal adyacente para determinar si estos factores influían en las mediciones y obtuvieron que esos no influyeron en cuanto a los valores recabados, aunque con el tiempo de medición encontraron que a los 240 s se obtienen mejores valores que los que se toman en un tiempo menos corto.

BIBLIOGRAFÍA

Ballesteros, H. B., & Aristizabal, G. L. (2007). Información técnica sobre gases de efecto invernadero y el cambio climático. *Instituto de Hidrología, Meteorología y Estudios Ambientales-IDEAM. Subdirección de Meteorología (Bogotá, Colombia). 96p.*

Berndt, A., Boland, T. M., Deighton, M. H., Gere, J. I., Grainger, C., Hegarty, R. S., ... & Williams, S. R. O. (2014). Guidelines for use of sulphur hexafluoride (SF6) tracer technique to measure enteric methane emissions from ruminants. *New Zealand Agricultural Greenhouse Gas Research Centre, New Zealand, 166.*

Berra, G., Finster, L., & Valtorta, S. E. (2009). Una técnica sencilla para la medición de emisiones de metano entérico en vacas. *FAVE Sección Ciencias Veterinarias, 8 (1), 49-56.*

Bonilla Cárdenas, J. A., & Lemus Flores, C. (2012). Emisión de metano entérico por rumiantes y su contribución al calentamiento global y al cambio climático: Revisión. *Revista mexicana de ciencias pecuarias*, 3 (2), 215-246.

Boré, R., Bruder, T., El Jabri, M., March, M., Hargreaves, P. R., Rouillé, B., ... & Chagunda, M. G. (2022). Measurement duration but not distance, angle, and neighbour-proximity affects precision in enteric methane emissions when using the laser methane detector technique in lactating dairy cows. *Animals*, 12 (10), 1295.

Bousquet, P., Ciais, P., Miller, J. B., Dlugokencky, E. J., Hauglustaine, D. A., Prigent, C., ... & White, J. (2006). Contribution of anthropogenic and natural sources to atmospheric methane variability. *Nature*, 443 (7110), 439-443.

Carmona, J., Bolívar, D., & Giraldo, L. (2005). El gas metano en la producción ganadera y alternativas para medir sus emisiones y aminorar su impacto a nivel ambiental y productivo. *Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias*, 18 (1), 15-15.

Carro Travieso, M. D., Evan, T. D., & Gonzalez Cano, J. (2018). Emisiones de metano en los animales rumiantes: influencia de la dieta. *Albóitar*, 220, 32-35.

Chagunda, M. G. G., & Yan, T. (2011). Do methane measurements from a laser detector and an indirect open-circuit respiration calorimetric chamber agree sufficiently closely? *Animal Feed Science and Technology*, 165 (1-2), 8-14.

Chagunda, M. G. G., Ross, D., & Roberts, D. J. (2009). On the use of a laser methane detector in dairy cows. *Computers and Electronics in Agriculture*, 68 (2), 157-160.

Chagunda, M. G. G., Ross, D., Rooke, J., Yan, T., Douglas, J. L., Poret, L., ... & Roberts, D. J. (2013). Measurement of enteric methane from ruminants using a hand-held laser methane detector. *Acta Agriculturae Scandinavica, Section A—Animal Science*, 63 (2), 68-75.

Charmley, E. S. R. O., Williams, S. R. O., Moate, P. J., Hegarty, R. S., Herd, R. M., Oddy, V. H., ... & Hannah, M. C. (2015). A universal equation to predict methane production of forage-fed cattle in Australia. *Animal Production Science*, 56 (3), 169-180.

Cobos Peralta, M., & Shimada Miyasaka, A. (2015). Digestión y metabolismo ruminal. *Nutrición Animal 3ª. ed. Armando Shimada Miyasaka (editor). Trillas*, 67-105.

Crowcon, detecting gas saving lives. (2020). Laser methane mini [en línea]. Disponible en: <https://www.crowcon.com/products/portables/lmm-gen-2/> (revisado el 20 de octubre de 2020).

Deighton, M. H., Williams, S. R. O., Hannah, M. C., Eckard, R. J., Boland, T. M., Wales, W. J., & Moate, P. J. (2014). A modified sulphur hexafluoride tracer technique enables accurate determination of enteric methane emissions from ruminants. *Animal Feed Science and Technology*, 197, 47-63.

Díaz Cordero, G. (2012). El cambio climático. *Ciencia y Sociedad*, 37 (2), 227-240.

Garnsworthy, P. C. (2004). The environmental impact of fertility in dairy cows: a modelling approach to predict methane and ammonia emissions. *Animal feed science and technology*, 112 (1-4), 211-223.

Garnsworthy, P. C., Difford, G. F., Bell, M. J., Bayat, A. R., Huhtanen, P., Kuhla, B., ... & Yan, T. (2019). Comparison of methods to measure methane for use in genetic evaluation of dairy cattle. *Animals*, 9 (10), 837.

Hernández-Medrano, J. H., & Corona, L. (2018). El metano y la ganadería bovina en México: ¿Parte de la solución y no del problema? *Agro Productividad*, 11 (2), 46.

Hristov, A. N., Oh, J., Giallongo, F., Frederick, T. W., Harper, M. T., Weeks, H. L., ... & Duval, S. (2015). An inhibitor persistently decreased enteric methane emission from dairy cows with no negative effect on milk production. *Proceedings of the national academy of sciences*, 112 (34), 10663-10668.

Intergovernmental Panel on Climate Change. (2013). *Climate change 2013: The physical science basis. Contribution of working group I to the fifth assessment report of the intergovernmental panel on climate change.* Stocker, T. F., D. Qin, G. K. Plattner, M. Tignor, S. K. Allen, J. Boschung, A. Nauels, Y. Xia, V. Bex, and P.M. Midgley (eds.). Cambridge University Press. Cambridge,UK.

Johnson, K. A., & Johnson, D. E. (1995). Methane emissions from cattle. *Journal of animal science*, 73 (8), 2483-2492.

Johnson, K., Huyler, M., Westberg, H., Lamb, B., & Zimmerman, P. (1994). Measurement of methane emissions from ruminant livestock using a sulfur hexafluoride tracer technique. *Environmental science & technology*, 28 (2), 359-362.

Kelly, J. M., Kerrigan, B., Milligan, L. P., & McBride, B. W. (1994). Development of a mobile, open-circuit indirect calorimetry system. *Canadian Journal of Animal Science*, 74 (1), 65-71.

Lassey, K. R., Pinares-Patiño, C. S., Martin, R. J., Molano, G., & McMillan, A. M. S. (2011). Enteric methane emission rates determined by the SF6 tracer technique: Temporal patterns and averaging periods. *Animal feed science and technology*, 166, 183-191.

McCaughey, W. P., Wittenberg, K., & Corrigan, D. (1997). Methane production by steers on pasture. *Canadian Journal of Animal Science*, 77 (3), 519-524.

McDonald, P. (1966). *Nutrición animal*. (7a ed). Acribia.

Montzka, S. A., Dlugokencky, E. J., & Butler, J. H. (2011). Non-CO2 greenhouse gases and climate change. *Nature*, 476 (7358), 43-50.

Moss, A. R., Jouany, J. P., & Newbold, J. (2000, May). Methane production by ruminants: its contribution to global warming. In *Annales de zootechnie* (Vol. 49, No. 3, pp. 231-253). EDP Sciences.

SEMARNAT. (2013). *Inventario Nacional de Emisiones de Gases de Efecto Invernadero 1990-2010*. Secretaría de Medio Ambiente y Recursos. México. pp. 384. Disponible en: http://www.inecc.gob.mx/descargas/cclimatico/inf_iegei_public_2010.pdf

Sorg, D., Difford, G. F., Mühlbach, S., Kuhla, B., Swalve, H. H., Lassen, J., ... & Pszczola, M. (2018). Comparison of a laser methane detector with the GreenFeed and two breath analysers for on-farm measurements of methane emissions from dairy cows. *Computers and electronics in agriculture*, 153, 285-294.

Tharwat, M., Al-Sobayil, F., Ali, A., & Buczinski, S. (2012). Transabdominal ultrasonographic appearance of the gastrointestinal viscera of healthy camels (*Camelus dromedaries*). *Research in veterinary science*, 93 (2), 1015-1020.

Williams, S. R. O., Moate, P. J., Hannah, M. C., Ribaux, B. E., Wales, W. J., & Eckard, R. J. (2011). Background matters with the SF6 tracer method for estimating enteric methane emissions from dairy cows: A critical evaluation of the SF6 procedure. *Animal Feed Science and Technology*, 170 (3-4), 265-276.

Yokoyama, MT y Johnson, KA. (1993). Microbiología del rumen e intestino. En: Church DC. El rumiante: fisiología digestiva y nutrición. (pp. 137-156). Acribia.

CAPÍTULO 1: CONCENTRACIÓN DE METANO EN EL RUMEN DE UNA VACA CON CANULA ABIERTA

INTRODUCCIÓN

El metano (CH_4) es un gas efecto invernadero importante que contribuye al cambio climático, ya que tiene un potencial de calor 28 veces mayor al CO_2 , asimismo, el metano entérico representa el 17% de las emisiones de metano mundiales, que en su mayoría es emitido por bovinos y en menor concentración ovinos y caprinos (Knapp *et al.*, 2014).

El CH_4 entérico es el resultado final de la fermentación de los alimentos, se realiza en el rumen gracias a la microbiota ruminal (bacterias, protozoarios, hongos y *Archeas*) durante esta fermentación, se obtienen ácidos grasos volátiles (AGV), principalmente acético, propiónico y butírico, además de moléculas de H_2 y CO_2 ; las arqueas utilizan estos dos últimos componentes para generar CH_4 , éstas juegan un papel importante ya que son microorganismos anaerobios estrictos que producen CH_4 como parte de su metabolismo energético (Brock *et al.*, 1994).

Para la medición del metano entérico en el ganado lechero se utilizan diferentes métodos o técnicas ya conocidas como son las cámaras calorimétricas, las técnicas trazadoras como el hexafluoruro de azufre (SF_6), el sistema de alimentación por GreenFeed, y las técnicas micrometeorológicas y/o de masas (Russell *et al.*, 2007). Los métodos mencionados, aunque son efectivos, tienen una aplicación limitada en las granjas lecheras (Chaguada *et al.*, 2009), ya que no dejan de ser invasivos para el animal y los costos que se generan al implementar cualquiera de las técnicas es elevado (Garnsworthy *et al.*, 2019).

En la última década se han hecho investigaciones sobre el uso de un detector de metano láser (LMD), para medir el metano entérico en vacas lecheras sin producir ninguna alteración en el animal (Chagunda *et al.*, 2009), aunque aún no se tiene un método establecido, se continúa con la realización de más pruebas para mejorar la confianza en el uso del LMD en rumiantes.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

En la actualidad, las emisiones de gases efecto invernadero (GEI) han ido en incremento, lo que ocasiona un aumento en la temperatura de la tierra; dentro de los principales GEI se encuentran el dióxido de carbono (CO_2), el metano (CH_4) y el óxido nitroso (N_2O), siendo el metano el de mayor importancia, ya que dentro de sus principales emisores de origen antropogénico se encuentra el sector ganadero, donde la fermentación entérica ocupa el 29% de producción total, éste es producido principalmente por los rumiantes, en especial los bovinos; Para poder medir las emisiones de metano, se han recurrido a varias técnicas o métodos ya conocidos como son las cámaras calorimétricas, técnicas trazadoras como el método de hexafluoruro de azufre (SF_6), el sistema de alimentación por GreenFeed, y las técnicas micrometeorológicas y/o de masas, estas técnicas son laboriosas y tardadas, por lo cual se han buscado técnicas novedosas que ayuden a detectar el gas en menor tiempo.

JUSTIFICACIÓN

Por lo que se usará un detector láser de uso industrial el cual mide las concentraciones de CH_4 .

OBJETIVOS

General

Evaluar la sensibilidad a través de la exactitud y reproducibilidad del LMm para estimar concentraciones de metano en el rumen de una vaca fistulada de 0.5 a 2.0 m de distancia.

Específico

Evaluar las concentraciones de metano una vez abierta la cánula 10 min después de la primera toma de lectura.

HIPÓTESIS

General

El LMm tiene la sensibilidad de estimar las concentraciones de gas metano a diferentes distancias en una vaca fistulada.

Específico

Las concentraciones de metano disminuirán una vez abierta la cánula 10 min después de la primera toma de lectura.

MATERIAL Y MÉTODOS

Ubicación, animales y equipo

El trabajo se realizó en la granja experimental del programa de Ganadería del Colegio de Postgraduados, Campus Montecillo, Texcoco, Estado de México. Se usó el reglamento para el uso y cuidado de animales destinados a la investigación aprobado en el año 2019 en el Colegio de Postgraduados. Para el experimento se necesitó una vaca fistulada raza Jersey de 460 kg con 4 años $\frac{1}{2}$ de edad, se utilizó el equipo LaserMethane mini (LMm), modelo SA3C32A, marca CROWCON, año 2015, hecho en Japón, para evaluar concentraciones de metano directas del rumen.

Preparación del equipo

El equipo se calibró con los pasos del Manual de Operación del LMm SA3C32A (Tokio Gas Engineering Solutions Corporation [TGE], 2015).

Auto calibración

1. Se aseguró que el equipo estuviera apagado y se presionó el botón de encendido aproximadamente 2 s mientras se presionaba el botón de menú/enter.
2. Se inició la calibración automática de 2 a 3 min, hasta que apareció en la pantalla [Calibración automática].
3. Una vez completada la calibración automática, se ejecutó la autocomprobación. El modo numérico apareció, y el producto entró en el estado de espera de medición.

La calibración se realizó dentro del laboratorio de Microbiología Ruminal y Genética Microbiana del Colegio de Postgraduados, antes de ir a la granja experimental para realizar las lecturas de CH₄ en el rumen de la vaca.

Sujeción del animal

Para la sujeción, se necesitó de una soga con la cual se realizó una gasa que fue colocada en el cuello de la vaca, posteriormente se llevó a una orilla del corral y se sujetó en uno de los tubos, como el animal fue amaestrado, no se requirió la ayuda de otra persona.

Mediciones y recolecta de datos

Se retiró el tapón de la cánula y se introdujo en un recipiente con agua caliente, se encendió el LMM y se obtuvieron las lecturas de CH₄ con el láser en posición horizontal en dirección al orificio ruminal a una distancia de 0.5, 1, 1.5 y 2 m por 15 s dos veces por día, los primeros cuatro días después del consumo del alimento matutino con un tiempo de espera de 10 min entre cada medición con la cánula abierta, posteriormente, del día cinco al día 10, sólo se realizó una por día de la misma forma que las anteriores, una vez terminadas las muestras se prosiguió a colocar el tapón a la cánula y se le retiró la soga a la vaca (Figura 1).

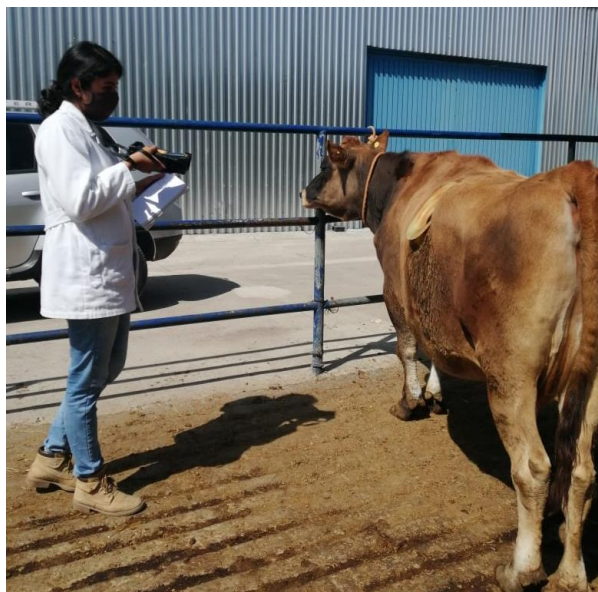


Figura 1. Toma de lecturas directas en el orificio ruminal de una vaca.

Análisis estadístico

Se utilizó un diseño de estadística descriptiva donde se analizaron media, desviación estándar y coeficiente de variación, todos los datos obtenidos fueron registrados y analizados en el programa Excel.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En el Cuadro 1 se observa que cuando la cánula se abrió por primera vez, conforme aumentó la distancia del láser, éste detectó menor concentración de metano (811 a 444.75 ppm); 10 min después de la primera lectura se encontró que a medida que aumentaban las distancias, el láser detectaba menor cantidad de metano de 523.5 a 462.75 ppm.

En la distancia de 0.5 y 1.0 m (Cuadro 1) se observa que cuando se realizó la segunda lectura 10 min después de la primera, las concentraciones de metano disminuyeron 35.5 y 17.34% respectivamente, mientras que a 1.5 y 2.0 m se encontró que cuando se tomó la segunda lectura 10 min después de haber retirado el tapón de la cánula por primera vez, el metano aumentó 18 y 3.89% respectivamente.

Cuadro 1. Medias de lecturas realizadas con el equipo LMm a diferentes distancias en una vaca fistulada.

Mediciones distancias (m)	1° Mediciones (ppm)			2° Mediciones (ppm)		
	Media	σ	C.V	Media	Σ	C.V
0.5	811.00	183.40	22.61	523.50	94.91	18.13
1.0	617.25	153.45	24.86	510.00	197.66	38.76
1.5	407.19	50.19	12.32	497.75	94.34	18.95
2.0	444.75	127.34	28.63	462.75	139.52	30.15

σ , Desviación estándar; C.V, coeficiente de variación; 1°, primera medición realizada después del alimento matutino; 2°, segunda medición realizada 10 min después de la primera lectura.

No se encontraron investigaciones donde hayan medido concentraciones de metano con algún equipo a diferentes distancias en bovinos canulados, sin embargo, se encontró que el LMm detectó concentraciones de metano desde 0.5 hasta 2.0 m de distancia.

CONCLUSIÓN

Se concluye que el LaserMethane mini detecta concentraciones de metano en el rumen de vacas fistuladas de 0.5 a 2.0 m de distancia y conforme esta aumenta el LMm presenta menores registros de metano.

Cuando la cánula se mantuvo abierta durante 10 min las concentraciones de metano disminuyen con respecto a la primera lectura.

BIBLIOGRAFÍA

Brock, T. D., Madigan, M. T., Martinko, J. M., & Parker, J. (1994). Biology of microorganisms 7th ed. *Prentice Hall Upper Saddle River, New Jersey*, 648, 650.

Chagunda, M. G. G., & Yan, T. (2011). Do methane measurements from a laser detector and an indirect open-circuit respiration calorimetric chamber agree sufficiently closely? *Animal Feed Science and Technology*, 165 (1-2), 8-14.

Chagunda, M. G. G., Ross, D., & Roberts, D. J. (2009). On the use of a laser methane detector in dairy cows. *Computers and Electronics in Agriculture*, 68 (2), 157-160.

Garnsworthy, P. C., Difford, G. F., Bell, M. J., Bayat, A. R., Huhtanen, P., Kuhla, B., ... & Yan, T. (2019). Comparison of methods to measure methane for use in genetic evaluation of dairy cattle. *Animals*, 9 (10), 837.

Knapp, J. R., Laur, G. L., Vadas, P. A., Weiss, W. P., & Tricarico, J. M. (2014). Invited review: Enteric methane in dairy cattle production: Quantifying the opportunities and impact of reducing emissions. *Journal of dairy science*, 97 (6), 3231-3261.

Russell, J. M., Barnett, J. W., Desilets, E., & Bertrand, S. (2007). Mitigation strategies to reduce GHG emissions from the dairy industry. *Fil-Idf Bulletin: Federation Internationale de Laiterie International Dairy Federation*, 422, 30.

Sorg, D., Difford, G. F., Mühlbach, S., Kuhla, B., Swalve, H. H., Lassen, J., ... & Pszczola, M. (2018). Comparison of a laser methane detector with the GreenFeed and two breath analysers for on-farm measurements of methane emissions from dairy cows. *Computers and electronics in agriculture*, 153, 285-294.

Tokio Gas Engineering Solutions Corporation. (29 de junio de 2015). *LaserMethane mini SA3C23A Operation Manual*. <https://site.jjstech.com/pdf/Crowcon-Pdf/SA3C32A-LMm-Manual-Issue-7-June-2015.pdf>

CAPÍTULO 2: ESTIMACIÓN DE METANO EN EL MORRO DE VACAS LECHERAS CON EL LMn

INTRODUCCIÓN

La producción de metano entérico se realiza en el rumen, del total un 80 a 95% es producido en éste y de un 5 a 20% en el intestino grueso, en este último es absorbido por vía sanguínea y expulsado a través del eructo (McCaughey *et al.*, 1999). Los rumiantes emiten aproximadamente el 99% del metano por la boca y las fosas nasales y solo el 1% por el ano (Murray *et al.*, 1976).

El metano es producido por un grupo de microorganismos anaeróbicos obligados, mismos que se encargan de la fermentación del alimento pertenecientes al dominio *Archaea*, éstas tienen un papel importante dentro de la regulación del H₂ ya que utilizan el H₂ y CO₂ para generar CH₄ como parte del metabolismo energético; algunas de estas especies son *Methanobacterium formicicum*, *Methanobrevibacter ruminantium* y *Methanomicrobium mobile* (Klass, 1984).

Para la medición de metano en rumiantes se han implementado varios métodos, unos de los más importantes son sin duda las cámaras de respiración o cámaras calorimétricas conocidas también como “el estándar de oro” por ser exactas y precisas, aunque el método es efectivo, implican costos de producción elevados y la recopilación de datos puede llegar a ser tardada, ya que está diseñada para introducir un animal a la vez (Garnsworthy *et al.*, 2019).

Actualmente se han hecho investigaciones sobre el uso de un detector de metano láser (LMD), patentado generalmente para el uso industrial, éste se basa en espectroscopía de absorción infrarroja y utiliza un láser semiconductor como fuente de excitación colimada; Chagunda *et al.* (2009) implementaron por primera vez el uso de un detector láser para medir las concentraciones de metano en vacas lecheras, lo que ha generado que se realicen más investigaciones con la misma tecnología, si bien, aún sigue en perfección el método, algunas de las ventajas de éste son la nula perturbación de los animales y la reducción de costos en producción, en esta investigación el objetivo fue

evaluar el equipo LaserMethane mini SAE3C32A al realizar mediciones directas en el morro de vacas lecheras.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Para la detección de las emisiones de metano en el ganado bovino existen diversos métodos que pueden ayudar a la detección de éste como lo son las cámaras calorimétricas, las cuales son exactas y precisas, pero costosas, así como también se necesita de capacitación del personal, y los resultados son tardados; en las últimas dos décadas se han hecho investigaciones acerca de un detector láser de uso industrial, ahora utilizado para la detección de emisiones de metano en el ganado bovino y ovino, principalmente en los bovinos de leche; aunque aún no se ha establecido un lugar específico de medición, tiempo y distancia.

JUSTIFICACIÓN

El LaserMethane mini se utilizó para medir concentraciones de metano en el morro de bovinos como una alternativa económica que no requiere de equipos costosos o de personal altamente especializado para la toma de lecturas.

OBJETIVOS

Evaluar la sensibilidad del detector láser para estimar la concentración de metano en el morro de vacas en producción.

HIPÓTESIS

El detector láser tiene la sensibilidad para estimar concentraciones de metano en el morro de vacas en producción.

MATERIAL Y MÉTODOS

Ubicación, animales y equipo

El trabajo se realizó en la granja experimental del programa de Ganadería del Colegio de Postgraduados, Campus Montecillo, Texcoco, Estado de México; se utilizaron 10 vacas en producción de la raza Holstein y Jersey, las cuales estaban identificadas con aretes 035, 051, 402, 422, 426, 452, 7783, A07, Z01 y Z31, éstas se encontraron en descanso (echadas y paradas) durante el experimento. Para evaluar concentraciones de metano directas del morro se utilizó el equipo LaserMethane mini (LMm), modelo SA3C32A, marca CROWCON, año 2015, hecho en Japón; se usó el reglamento para el uso y cuidado de animales destinados a la investigación aprobado en el año 2019 en el Colegio de Postgraduados.

Toma de lecturas

Para medir el metano se utilizó el equipo LMm, el cual funciona con un detector láser, las mediciones se realizaron por la mañana después del consumo de alimento matutino durante 10 días, para la toma de lecturas se colocó el láser en dirección a la región del morro a 1 m de distancia por 10 s cuando las vacas se encontraban en descanso para que no hubiera perturbación del animal (Figura 2).



Figura 2. Toma de lecturas con el detector láser en la región del morro de vacas en producción lechera.

Análisis estadístico

Se utilizó un diseño de estadística descriptiva donde se analizaron media, desviación estándar y coeficiente de variación, todos los datos obtenidos fueron vaciados y analizados en el programa Excel.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El equipo LMD detectó en bovinos en producción, concentraciones de metano en el morro (Cuadro 2), donde la más baja con respecto a las medias fue de 43.2 ppm y la más alta de 92.8 ppm, con 53.45% de diferencia, mientras que Chagunda *et al.* (2009) encontraron en las fosas nasales de vacas valores promedios de 200.1 ppm a una distancia de 3 m durante 15 a 25 s, estos fueron mayores a los encontrados en la presente investigación ya que ellos midieron 10 s más, a una distancia mayor y en diferente región; en otro estudio se halló concordancia entre los valores de un LMD y una cámara calorimétrica al hacer mediciones indirectas de CH₄ en vacas lecheras, cuando se dirigía el láser a uno de los respiraderos de salida de dicha cámara a una distancia de 2 a 3 m por 27 d (Chagunda *et al.*, 2011), del mismo modo se demostró la efectividad del LMD al comparar las concentraciones de metano entérico en vacas y ovejas con una cámara calorimétrica (Chagunda *et al.*, 2013).

Con relación a los resultados, estos se dividieron en rangos de 20; se observó que cuatro tuvieron concentraciones entre 40 y 60 ppm (arete 426, 7783,452 y Z31), cinco se encontraron en el rango de 60 a 80 ppm (Z01, A07, 035, 402 y 051) y, por último, la vaca identificada con el arete 422 tuvo de 80 a 100 ppm (Cuadro 2).

Cuadro 2. Medias de las concentraciones de metano, realizadas a 1 m del morro de vacas lecheras con el LaserMethane mini.

Arete	Media (ppm)	Σ (ppm)	C.V (ppm)
035	64.4	31.18	48.42
051	75.1	77.29	102.92
402	67.1	50.20	74.81
422	92.8	96.55	104.04
426	43.2	26.78	62.00
452	44.1	36.90	83.67
7783	43.3	19.17	44.26
A07	61.8	63.80	103.23
Z01	60.7	51.88	85.47
Z31	53.8	85.74	159.36

σ , Desviación estándar; C.V., coeficiente de variación.

En la Figura 3 se muestran las concentraciones de metano de las 10 vacas durante 10 d, el LMM reportó en la mayoría de las mediciones concentraciones menores a 100 ppm, pero también se encontraron algunos picos por arriba de 150 ppm.

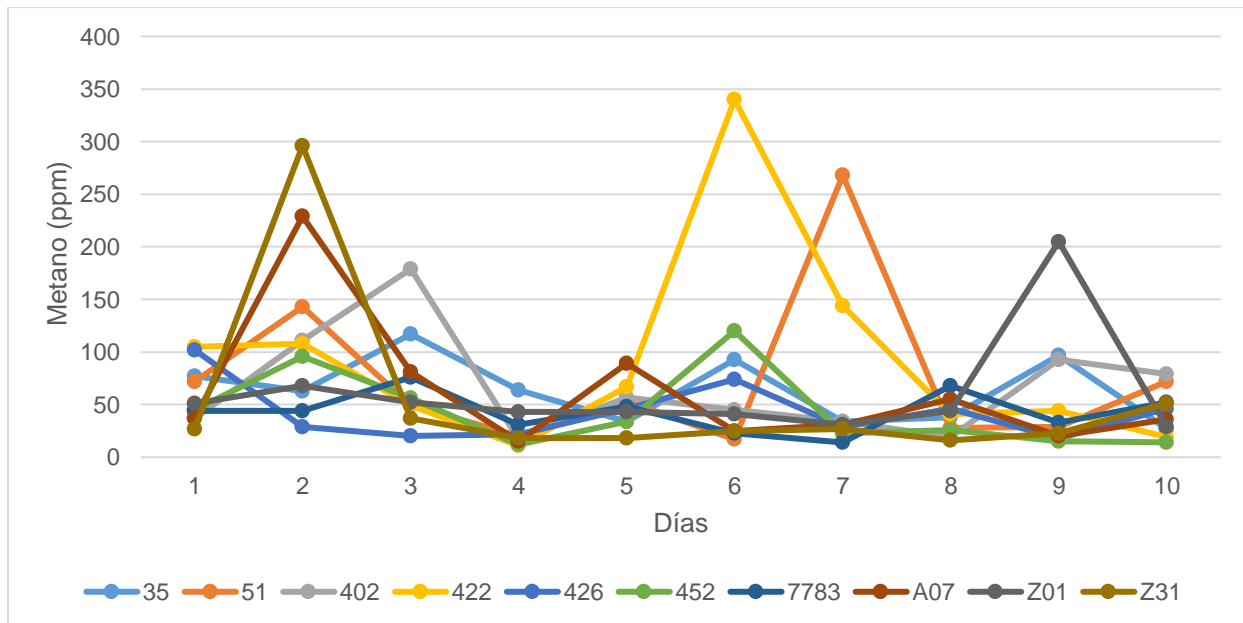


Figura 3. Comportamiento de las concentraciones de metano en vacas en producción.

El valor más bajo y alto fue encontrado en la misma vaca, los cuales oscilaron entre 11 y 340 ppm respectivamente, lo que resultó que en las mediciones hubiera alta variabilidad (Figura 4).

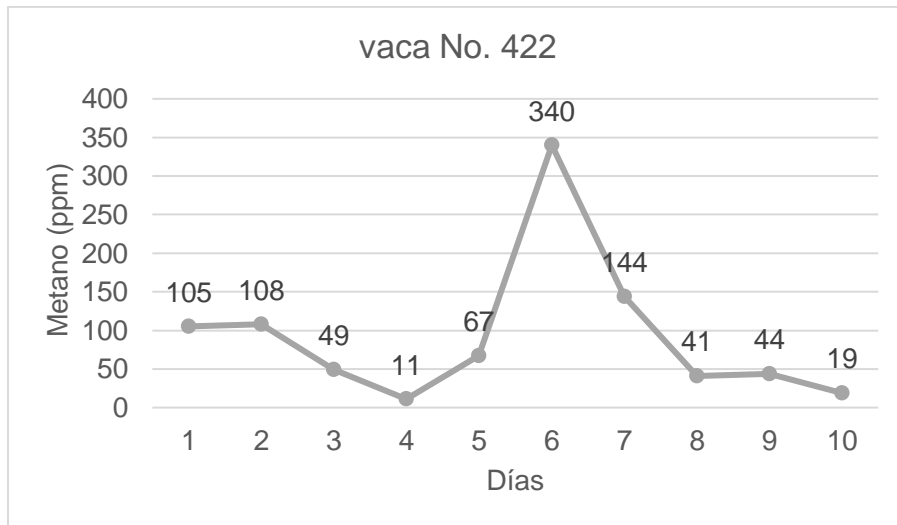


Figura 4. Concentraciones de metano en la vaca con el valor más bajo y alto.

Al realizar las mediciones en el morro de las vacas por 10 s se obtuvo mucha variabilidad en cuanto a las concentraciones de metano, Boré *et al.* (2022) afirmaron que las mediciones tomadas durante 240 s son más precisas que las de un tiempo menor y que los factores distancia, ángulo de medición y la presencia de un animal adyacente no producen efecto alguno en la toma de medición por animal.

CONCLUSIÓN

El LaserMethane mini tiene la sensibilidad para medir concentraciones de metano en el morro de vacas en producción sin causar perturbación al animal. Sin embargo, las lecturas presentan un coeficiente de variación muy alto, lo que no permite confiar en los resultados.

BIBLIOGRAFÍA

Boré, R., Bruder, T., El Jabri, M., March, M., Hargreaves, P. R., Rouillé, B., ... & Chagunda, M. G. (2022). Measurement duration but not distance, angle, and neighbour-proximity affects precision in enteric methane emissions when using the laser methane detector technique in lactating dairy cows. *Animals*, 12 (10), 1295.

Chagunda, M. G. G., & Yan, T. (2011). Do methane measurements from a laser detector and an indirect open-circuit respiration calorimetric chamber agree sufficiently closely?. *Animal Feed Science and Technology*, 165 (1-2), 8-14.

Chagunda, M. G. G., Ross, D., & Roberts, D. J. (2009). On the use of a laser methane detector in dairy cows. *Computers and Electronics in Agriculture*, 68 (2), 157-160.

Chagunda, M. G. G., Ross, D., Rooke, J., Yan, T., Douglas, J. L., Poret, L., ... & Roberts, D. J. (2013). Measurement of enteric methane from ruminants using a hand-held laser methane detector. *Acta Agriculturae Scandinavica, Section A–Animal Science*, 63 (2), 68-75.

Garnsworthy, P. C., Difford, G. F., Bell, M. J., Bayat, A. R., Huhtanen, P., Kuhla, B., ... & Yan, T. (2019). Comparison of methods to measure methane for use in genetic evaluation of dairy cattle. *Animals*, 9 (10), 837.

Klass, D. L. (1984). Methane from anaerobic fermentation. *Science*, 223 (4640), 1021-1028.

McCaughey, W. P., Wittenberg, K., & Corrigan, D. (1999). Impact of pasture type on methane production by lactating beef cows. *Canadian Journal of Animal Science*, 79 (2), 221-226.

Murray, R. M., Bryant, A. M., & Leng, R. A. (1976). Rates of production of methane in the rumen and large intestine of sheep. *British journal of nutrition*, 36 (1), 1-14.

Russell, J. M., Barnett, J. W., Desilets, E., & Bertrand, S. (2007). Mitigation strategies to reduce GHG emissions from the dairy industry. *Fil-Idf Bulletin: Federation Internationale de Laiterie International Dairy Federation*, 422, 30.

CAPÍTULO 3: USO DE UN DETECTOR LÁSER PARA ESTIMAR CONCENTRACIÓN DE METANO EN BECERROS

INTRODUCCIÓN

El rumiante adulto emite metano debido a su proceso digestivo anaeróbico estricto, que involucra diferentes tipos de bacterias, a su vez degradan los alimentos y los fermentan para convertirlos en ácidos grasos volátiles (AGV) además de generar CO₂ y moléculas de H₂, que conllevan a la formación de metano (CH₄) (Garnsworthy *et al.*, 2019).

Si bien los rumiantes jóvenes presentan al nacer un sistema de digestión monogástrico ya que tienen un rumen-retículo sin desarrollar, lo que da paso a la absorción de nutrimentos en el abomaso y no el rumen (Church *et al.*, 2003; Davis y Drackley, 1998); a partir de los 14 d de nacidos se puede detectar una comunidad bacteriana compuesta por muchas bacterias similares a las de un rumen desarrollado (Rey *et al.*, 2014; Jami *et al.*, 2013), la colonización del rumen en terneros jóvenes coadyuva a tratar la población de arqueas en el rumen para obtener efectos a largo plazo sobre la reducción en la emisión de CH₄ (Yañez-Ruiz *et al.*, 2015). Conforme el ternero comienza a ingerir alimentos sólidos, empieza a haber un incremento en la producción y fermentación de gases a manera que el rumen-retículo se desarrolla y da inicio a la eliminación de CH₄ por vía eructo, aproximadamente a las cuatro semanas de vida (Carmona *et al.*, 2005).

Por lo tanto, el objetivo de la investigación fue detectar concentraciones de metano en el morro de becerros con el equipo LaserMethane mini SAE3C32A.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

En becerros el desarrollo del rumen es esencial para lograr un buen funcionamiento del mismo, entre más joven comience a consumir alimentos sólidos el retículo, omaso y abomaso se desarrollarán con mayor rapidez; en rumiantes adultos, se han utilizado varias técnicas para la medición de metano como son las cámaras de respiración y la técnica trazadora de hexafluoruro de azufre, actualmente se ha incorporado el uso de un detector láser para estimar las concentraciones de metano pero especialmente en vacas.

JUSTIFICACIÓN

Medir las concentraciones de metano en becerros con el equipo LaserMethane mini como una alternativa económica y de fácil uso.

OBJETIVO

Evaluar si el equipo LaserMethane mini puede detectar metano en el morro de becerros.

HIPÓTESIS

El LaserMethane mini detectará emisiones de metano en becerros.

MATERIAL Y MÉTODOS

Ubicación, animales y equipo

El trabajo se realizó en la granja experimental del programa de Ganadería del Colegio de Postgraduados, Campus Montecillo, Texcoco, Estado de México; se utilizaron ocho becerros de raza Holstein; en el Cuadro 3 se muestran las características de cada uno, se usó el reglamento para el uso y cuidado de animales destinados a la investigación aprobado en el año 2019 en el Colegio de Postgraduados.

Cuadro 3. Características de los becerros.

Arete	Raza	Edad (d)
1	Holstein	72
2	Holstein	71
3	Holstein	69
4	Holstein	50
5	Holstein	49
B6	Holstein	40
B7	Holstein	35
B8	Holstein	28

Toma de lecturas

Para evaluar las concentraciones de metano en el morro, se utilizó el equipo LaserMethane mini (LMm), modelo SA3C32A, marca CROWCON (2015, Japón), el cual funciona con un detector láser; durante 10 d se realizaron mediciones después del consumo de alimento matutino; para la toma de lecturas se colocó el láser en dirección a la región del morro a una distancia de 1 a 2 m por 10 s, cuando los becerros se encontraban en descanso para que no hubiera perturbación de estos (Figura 5).



Figura 5. Toma de lecturas en la región del morro de becerros.

Análisis estadístico

Se utilizó un diseño de estadística descriptiva donde se analizaron media, desviación estándar y coeficiente de variación, todos los datos obtenidos fueron registrados y analizados en el programa Excel.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la Figura 6 se muestran las concentraciones de metano que se obtuvieron de los ocho becerros al realizar las lecturas en dirección al morro, donde se observa que éstas fueron inconsistentes durante los días de medición.

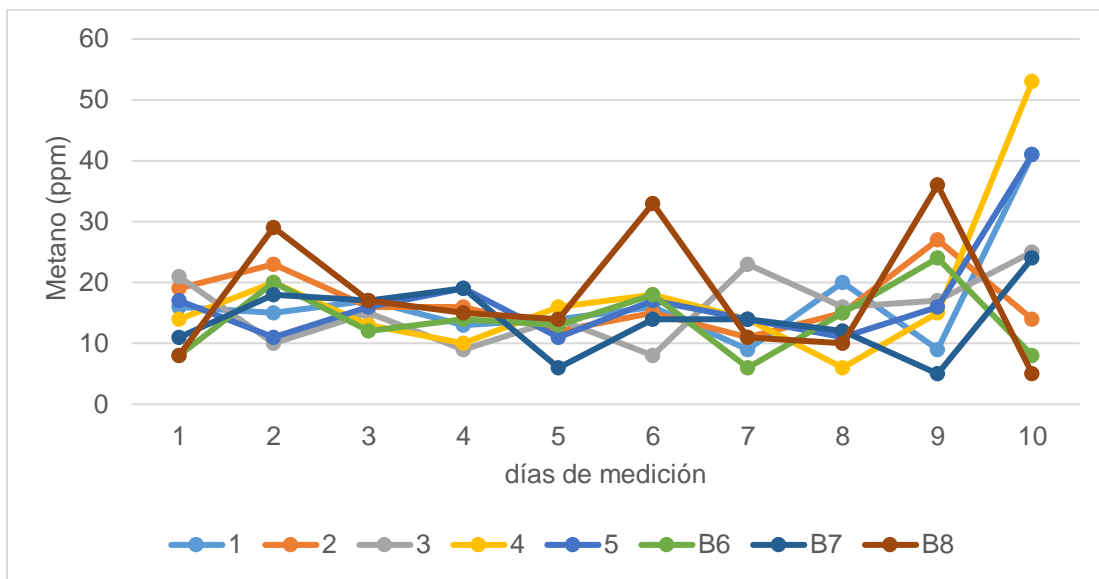


Figura 6. Comportamiento de las concentraciones de metano en becerros.

Boré *et al.* (2022) señalan que la distancia, el ángulo y la cercanía de un animal no influyen en cuanto a las mediciones, pero si el tiempo de medición, entre mayor sea éste, mejores serán las lecturas. En el presente estudio las mediciones se realizaron en el morro a una distancia de 1 m durante 10 s en una posición recta frente al animal (Figura 5). En el Cuadro 4 se observa que la diferencia de edad entre los becerros (44 d) no influyó en las mediciones ya que las concentraciones de metano van de 13.80 a 17.90 ppm sin importar la diferencia de días entre un becerro y otro.

Con relación a la edad en la presente investigación se encontró que en los rumiantes adultos las concentraciones de metano fueron de 43.2 a 92.8 ppm (Cuadro 2), mientras que en los becerros éstas disminuyeron de un 68.1 a 80.72% respectivamente, se sabe

que los rumiantes jóvenes tienen poco desarrollado el estómago lo que hace que la fermentación sea menor y con ello haya una baja emisión de metano (Lane *et al.*, 2002).

Cuadro 4. Concentraciones de metano en el morro de becerros.

Arete/ medición	Edad (d)	Media (ppm)	σ (ppm)	C.V. (ppm)
1	72	17	9.09	53.48
2	71	16.80	4.94	29.40
3	69	15.80	5.87	37.12
4	50	17.90	12.94	72.29
5	49	17.30	8.81	50.91
B6	40	13.80	5.71	41.39
B7	35	14.00	5.85	41.79
B8	28	17.80	10.94	61.47

σ , Desviación Estándar; C.V., Coeficiente de Variación.

En otras investigaciones se han utilizado otras técnicas para medir la emisión de metano en terneros de engorda destetados, Wang *et al.* (2015) utilizaron la metodología del IPCC 2006 por ciclo de producción; al calcular el CH₄ entérico obtuvieron un valor de 1.6 g/d por becerro lo que equivale a 1600 ppm; la diferencia en las concentraciones de metano puede radicar en que la metodología de estos investigadores se basó en un modelo empírico mientras que en la presente investigación se determinó con un dispositivo láser detector de metano.

CONCLUSIÓN

El equipo LaserMethane mini detectó emisiones de metano en el morro de becerros a una distancia de un metro durante diez segundos con nula perturbación del animal.

BIBLIOGRAFÍA

Boré, R., Bruder, T., El Jabri, M., March, M., Hargreaves, P. R., Rouillé, B., ... & Chagunda, M. G. (2022). Measurement duration but not distance, angle, and neighbour-proximity affects precision in enteric methane emissions when using the laser methane detector technique in lactating dairy cows. *Animals*, 12 (10), 1295.

Carmona, J., Bolívar, D., & Giraldo, L. (2005). El gas metano en la producción ganadera y alternativas para medir sus emisiones y aminorar su impacto a nivel ambiental y productivo. *Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias*, 18 (1), 15-15.

Church, D. C. (2003). *The Ruminant Animal: Digestive Physiology and Nutrition*. EnglewoodCliffs,NJ:Prentice-Hall,Inc.

Davis, C. L., & Drackley, J. K. (1998). *The development, nutrition, and management of the young calf*. Iowa State University Press.

Garnsworthy, P. C., Difford, G. F., Bell, M. J., Bayat, A. R., Huhtanen, P., Kuhla, B., ... & Yan, T. (2019). Comparison of methods to measure methane for use in genetic evaluation of dairy cattle. *Animals*, 9 (10), 837.

Jami, E., Israel, A., Kotser, A., & Mizrahi, I. (2013). Exploring the bovine rumen bacterial community from birth to adulthood. *The ISME journal*, 7 (6), 1069-1079.

Lane, M. A., Baldwin IV, R. L., & Jesse, B. W. (2002). Developmental changes in ketogenic enzyme gene expression during sheep rumen development. *Journal of animal science*, 80 (6), 1538-1544.

Rey, M., Enjalbert, F., Combes, S., Cauquil, L., Bouchez, O., & Monteils, V. (2014). Establishment of ruminal bacterial community in dairy calves from birth to weaning is sequential. *Journal of applied microbiology*, 116 (2), 245-257.

Wang, T., Teague, W. R., Park, S. C., & Bevers, S. (2015). GHG mitigation potential of different grazing strategies in the United States Southern Great Plains. *Sustainability*, 7 (10), 13500-13521.

Yáñez-Ruiz, D. R., Abecia, L., & Newbold, C. J. (2015). Manipulating rumen microbiome and fermentation through interventions during early life: A review. *Front. Microbiol.* 6: 1133.

CAPÍTULO 4: USO DE UN DETECTOR LÁSER PARA ESTIMAR CH₄ EN TRAMPAS DE SAL, BOLSAS DE BIOGÁS Y MANGUERAS DE TYGON

INTRODUCCIÓN

Para la medición de gas metano existen técnicas *in vivo* e *in vitro*, las primeras requieren el uso de los animales mientras se realiza el experimento, además de que los equipos utilizados son de alto costo y requieren de mantenimiento; por otra parte, las técnicas *in vitro* son más baratas y la obtención de análisis es en menor tiempo, entre otras cosas se pueden evaluar diferentes aditivos o ingredientes en la dieta individual (Posada y Noguera, 2005; López y Newbold, 2007).

Uno de los métodos para la producción de biogás *in vitro* es la utilización de medios de cultivo inoculados en tubos o viales serológicos de vidrio con líquido ruminal, estos al generar un ambiente anaeróbico comienzan a producir gas que, a su vez es captado dentro de trampas de viales serológicos con solución salina saturada acidificada (Krabill *et al.*, 1969), esta técnica ayuda a poder cuantificar de una manera económica, fácil y sencilla el total de CH₄, CO₂ y biogás producido.

Otra herramienta para almacenar los gases son las bolsas Tedlar las cuales están elaboradas de una película de fluoruro de polivinilo (PVF) de 2000 de espesor con una resistencia al calor de 150 a 170 °C, cuenta con una válvula check fabricada en teflón, además tienen una excelente impermeabilidad e inercia a muchos gases, lo que disminuye las fugas y aumenta el tiempo de almacenamiento, asimismo se asegura un correcto traslado de las muestras al laboratorio y su implementación es de fácil operación (Nutech Instruments, Inc, s.f.).

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Una técnica para poder captar el biogás de los rumiantes es la trazadora con hexafluoruro de azufre, esta permite almacenar el gas SF₆ en un contenedor colocado sobre el animal, para posteriormente medir su concentración y estimar la emisión del metano, aunque se considera una buena técnica, requiere de un costo de inversión elevado y de personal capacitado para poder realizarlo.

JUSTIFICACIÓN

Lo que ha llevado a la búsqueda de nuevas herramientas que sean resistentes a la permeación de gases, de tal forma que disminuyan las pérdidas y aumente el tiempo de almacenamiento de estos además de ser económicas y prácticas.

OBJETIVOS

General

Medir con el equipo LaserMethane mini concentraciones de gas metano comercial.

Específicos

Medir las concentraciones de metano comercial al 100% en trampas de sal, bolsa de biogás y trampas de manguera Tygon con el equipo LaserMethane mini.

Evaluar las concentraciones de metano comercial al 50% CH₄ con 50% CO₂ en trampas de sal, bolsa de biogás y trampas de manguera Tygon con el equipo LaserMethane mini.

Determinar qué instrumento almacenará mayor concentración de metano comercial.

HIPÓTESIS

General

El equipo LaserMethane mini detectará concentraciones de gas metano comercial.

Específicos

El equipo LaserMethane mini medirá metano comercial al 100% en trampas de sal, bolsa de biogás y trampas de manguera Tygon.

El equipo LaserMethane mini determinará metano comercial al 50% CH₄ con 50% CO₂ en trampas de sal, bolsa de biogás y trampas de manguera Tygon.

Al menos uno de los tres instrumentos utilizados retendrá mayor concentración de metano comercial.

MATERIAL Y MÉTODOS

Ubicación y equipo

El experimento se realizó en el laboratorio de Microbiología Ruminal y Genética Microbiana, departamento de Ganadería del Colegio de Postgraduados, campus Montecillo km. 35 carretera federal: México-Texcoco, Montecillo, Texcoco, Estado de México; se utilizó el equipo LaserMethane mini (LMm), modelo SA3C32A, de la marca CROWCON del año 2015, hecho en Japón, donde se evaluaron concentraciones de CH₄ al 100% y 50% CH₄ con 50% CO₂ en trampas de sal, bolsas de biogás y mangueras de Tygon para determinar que técnica tuvo mayor efectividad para la captación del gas.

Llenado de trampas de sal

Se llenaron dos viales con 120 ml de solución salina saturada (370 g de NaCl/ L agua y 5 g de anaranjado de metileno al 0.1% como indicador de pH) con pH 2, para después sellarlos con un tapón de neopreno de 2 cm de diámetro y un arillo de aluminio con una selladora Wheaton y ser llenados con CH₄, uno a una concentración de 100% y el otro a 50% CH₄ y 50% CO₂. Se introdujeron dos agujas en el tapón del vial, con la trampa invertida hacia abajo (Figura 7), por una aguja se introdujo el gas y por la otra se liberó un volumen de 50 ml de solución salina.



Figura 7. Llenado de trampa de sal con CH₄.

Las trampas de sal fueron colocadas sobre una gradilla con el tapón hacia abajo para evitar la fuga del gas (Figura 8).

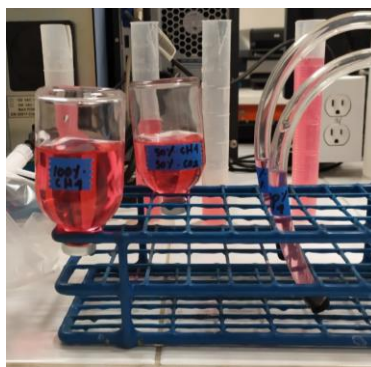


Figura 8. Colocación de trampas de sal sobre la gradilla.

Elaboración de trampa de gas con manguera de Tygon y llenado con CH₄

Para realizar la trampa se utilizaron dos tramos de 30 cm de manguera de Tygon ¼ de pulgada, tapones 00 para tubos de ensayo, agujas hipodérmicas desechables calibre 21 G x 32mm (marca Terumo), una jeringa desechable de 5 ml, gas comercial de la marca INFRA con concentración de CH₄ al 100% y 50% CH₄ con 50% CO₂ y solución salina, en cada extremo de la manguera se colocó un tapón 00 para evitar la salida de gas y agua, por uno de los extremos se colocaron dos agujas, en una se introdujo agua con ayuda de la jeringa y la otra funcionó como respiradero para la expulsión del aire, se verificó que no hubiera ninguna fuga, posteriormente se procedió a vaciar el agua y se introdujo un volumen de 20 ml de solución salina; por último, se llenaron las mangueras con gas CH₄, la primera a una concentración de 100% y la otra con 50% CH₄ y 50% CO₂; en cada extremo se colocó una aguja, por una se introdujo el CH₄, mientras que la otra drenó la solución salina; en total se vació un volumen de 15 ml de solución por gas introducido, una vez que se capturó el CH₄, se retiraron las agujas y se colocaron las trampas sobre una gradilla como se muestra en la Figura 9, con la finalidad de mantener el CH₄ dentro de las mangueras.

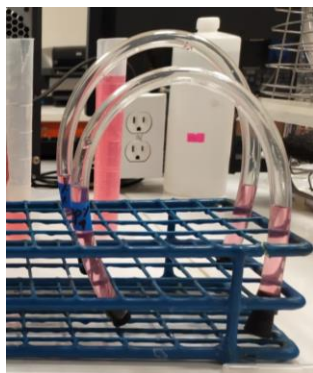


Figura 9. Posición de las trampas de Tygon sobre la gradilla.

Llenado de bolsas de biogás

Se utilizaron dos bolsas de biogás Tedlar, modelo Tedlar/TO-Plus Gas, material: polipropileno 2-N-1, marca ESS, con dimensión de 7x7" del año 2018 para después ser llenadas con gas metano comercial de la marca INFRA, en concentraciones de 100% y 50% CH₄ con 50% CO₂; las bolsas contenían una válvula anti- retorno o válvula check que impedía la salida del gas una vez introducido, asimismo para liberar el gas, se desenroscó la válvula y el gas fue expulsado por un tubo de plástico que estaba unido directo a la bolsa; para llenarlas se conectó una manguera de látex directamente al tanque de gas, por el otro extremo se le colocó una jeringa de 3 ml con aguja para introducirla dentro de la válvula de la bolsa, se abrió el tanque para el llenado de cada una con las concentraciones de metano antes mencionadas (Figura 10).



Figura 10. Llenado de bolsas de biogás con CH₄.

Todas las muestras fueron marcadas con la concentración de CH₄ que contenía cada una.

Toma de lecturas

Las mediciones se realizaron dentro del laboratorio de Microbiología Ruminal y Genética Microbiana, donde se posicionó una gradilla como apoyo dentro de una campana de flujo laminar de la marca LABCONCO; sobre ésta se colocó una a una cada trampa y bolsa previamente desinfectados con una sanita y alcohol al 96% para eliminar impurezas. Se realizaron lecturas a 0.5, 1, 1.5 y 2 m de distancia con el láser en posición horizontal. Las mediciones de las mangueras de Tygon se realizaron con el láser en dirección al nivel de la solución salina, con esta colocada sobre la gradilla como se mostró en la Figura 7, por otra parte, para las trampas de sal se siguió la misma dinámica que con las mangueras de Tygon; para terminar, las bolsas de biogás se recargaron sobre la gradilla y la pared de la campana de flujo laminar, y se midió en posición a la parte alta de la bolsa como se muestra en la Figura 11.

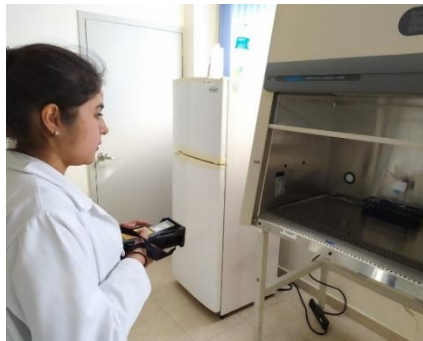


Figura 11. Muestra de la toma de datos y posición del láser.

Análisis estadístico

Se utilizó un diseño experimental, completamente al azar con arreglo Factorial 3x2x4 donde el factor A fueron (los materiales de las técnicas), el factor B fueron (los niveles de concentración de CH₄) y el factor C fueron (las distancias). Las medias se compararon con la prueba de Tukey ($\alpha=0.05$). El modelo estadístico fue:

$$Y_{ijk} = \mu + \alpha_i + \beta_j + \sigma_k + \alpha_i\beta_j + \alpha_i\sigma_k + \beta_j\sigma_k + \alpha_i\beta_j\sigma_k + \epsilon_{ijk}$$

Donde:

Y_{ijk} = Una observación cualquiera por defecto de los componentes principales

μ = Media poblacional

α_i = Efecto de la *i*-ésima observación de factor A

β_j = Efecto de la *j*-ésima observación de factor B

σ_k = Efecto de la *k*-ésima observación de factor C

$\alpha_i\beta_j$ = Efecto de la interacción de Ax B

$\alpha_i\sigma_k$ = Efecto de la interacción de Ax C

$\beta_j\sigma_k$ = Efecto de la interacción Bx C

$\alpha_i\beta_j\sigma_k$ = Efecto de la interacción de Ax Bx C

ϵ_{ijk} = Error experimental

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Las concentraciones de gas metano comercial se estimaron con el LMm al apuntar este sobre los diferentes materiales sellados, se encontró que la bolsa de biogás tiene la mejor retención de gas ($P \leq 0.05$) (Cuadro 5), con base en relación a ésta, las trampas de sal retuvieron tan sólo el 68% mientras que la manguera Tygon únicamente el 29%, debido a que la bolsa es impermeable a gases lo que la vuelve libre de fugas (Nutech Instruments, Inc, s.f.).

Al llenar los diferentes materiales con los niveles 50% CH₄– 50% CO₂, el LMm detectó una concentración de metano menor ($P \leq 0.05$) con respecto a cuando estos se llenaron con el 100% de CH₄, ya que el porcentaje para ambos casos no era igual. Lo que coincide con Curzaynz (2018) quien utilizó el LMm para medir CH₄ en viales cerrados e inoculados con arqueas metanogénicas.

Respecto a las distancias se observó que a 0.5 m se obtuvo una concentración con 2341.3 ppm, mientras que a 1 m fue de 1974.4 ppm, si bien a 0.5 y 1 m hubo diferencia significativa entre éstas, cuando la distancia fue de 1.5 y 2 m los resultados fueron similares con respecto a las anteriores ($P \leq 0.05$) (Cuadro 5), Boré *et al.* (2022) midieron en ganado lechero concentraciones de metano con el equipo LaserMethane mini en los orificios nasales a distancias de 2 y 3 m y no encontraron diferencia entre los valores de

metano entérico obtenidos, lo que coincide en ambas investigaciones fue que el Laser Methane mini detectó la presencia de metano, sin embargo, las distancias sí influyeron entre una investigación y otra.

Cuadro 5. Captación de gas metano comercial con manguera de Tygon, trampa de sal y bolsa de biogás a diferentes concentraciones con el equipo LaserMethane mini (LMm).

Técnicas para la captación de gas	Concentración de metano (ppm)
Material	
Manguera de Tygon	911.93 c
Trampa de sal	2156.64 b
Bolsas de biogás	3135.91 a
EEM	142.18
Niveles	
100% CH ₄	2358.06 a
50% CH ₄ 50% CO ₂	1907.06 b
EEM	71.18
Distancias	
0.5 m	2341.3 a
1 m	1974.4 b
1.5 m	2091.9 ab
2 m	2127.1 ab
EEM	275.66
Interacciones	
Materiales x niveles	<0.0001
Materiales x distancias	0.0323
Niveles x distancias	0.0049
Materiales x niveles x distancias	N/S

N/S, no significativo ($P \geq 0.05$); ppm, partes por millón; Medias con diferente letra en el mismo grupo son diferentes ($P \leq 0.05$); EEM, error estándar de la media.

En la interacción materiales x niveles, materiales x distancias y niveles x distancias se encontraron diferencias significativas ($P \leq 0.05$); mientras que en materiales x niveles x distancias no se vio afectado ($P \geq 0.05$) (Cuadro 5) cuando se evaluó el efecto de las tres variables al mismo tiempo.

CONCLUSIÓN

Se concluye que las bolsas de biogás son el mejor material para la captación de gas metano comercial; cuando el gas metano comercial se combina con CO₂ el equipo logra

detectar que el porcentaje de pureza disminuye, mientras que la mayor concentración de gas la obtiene a una distancia de 0.5 m.

RECOMENDACIONES

Se recomienda realizar más investigaciones con el LaserMethane mini para corroborar si la distancia es un factor que pueda influir en la medición de las concentraciones de gas metano comercial.

BIBLIOGRAFÍA

Boré, R., Bruder, T., El Jabri, M., March, M., Hargreaves, P. R., Rouillé, B., ... & Chagunda, M. G. (2022). Measurement duration but not distance, angle, and neighbour proximity affects precision in enteric methane emissions when using the laser methane detector technique in lactating dairy cows. *Animals*, 12 (10), 1295.

Curzaynz, K. R. (2018). *Aislamiento de una arquea metalogénico y evaluación de su potencial como inóculo microbiano en la producción de metano en biodigestores* [Tesis doctoral, Colegio de Postgraduados]. Repositorio de tesis del Colegio de Postgraduados. Revisado el 20 de agosto de 2023. http://colposdigital.colpos.mx:8080/xmlui/bitstream/handle/10521/3275/Curzaynz_Leyva_KR_DC_Ganaderia_2018.pdf?sequence=1&isAllowed=y

Krabill, L. F., Alhassan, W. S., & Satter, L. D. (1969). Manipulation of the ruminal fermentation. II. Effect of sodium sulfite on bovine digestion and ruminal fermentation. *Journal of Dairy Science*, 52 (11), 1812-1816.

López, S., Newbold, C. J., & Makkar, H. P. S. (2007). Measuring methane production from ruminants. *The Netherlands: Springer*. Pp 1-13.

Nutech Instruments, Inc. (s.f.). *Bolsa Tedlar para muestro de aire y gas*. Recuperado de <https://www.nutechinst.com/es/bolsa-tedlar-para-muestreo-de-aire-y-gas/>

Posada, S. L., & Noguera, R. R. (2005). Técnica in vitro de producción de gases: Una herramienta para la evaluación de alimentos para rumiantes. *Livestock Research for Rural Development*, 17 (4), 12-19.

CAPÍTULO 5: USO DE UN DETECTOR LÁSER PARA ESTIMAR LAS CONCENTRACIONES DE METANO EN EL CUERPO DE VACAS CON CÁNULA RUMINAL

INTRODUCCIÓN

La producción de metano en los rumiantes es en su mayoría producido por el rumen de 80 a 95%, mientras que, del 5 al 20% es generado en el intestino grueso, de ese porcentaje, el 89% es absorbido vía sanguínea y expulsado a través de los pulmones, por la respiración y por el eructo (McChaughey *et al.*, 1999); esto a su vez vuelve al ganado bovino una de las principales fuentes de gases efecto invernadero (GEI) de origen antropogénico debido al metano producido (Flachowsky y Kamphues, 2012).

En las últimas dos décadas se han realizado investigaciones acerca del uso de un detector Láser portátil para medir las emisiones de gas metano en rumiantes, principalmente en ganado bovino lechero. Chagunda *et al.* (2009) reportaron que el detector láser es un equipo que tiene la habilidad de estimar las concentraciones de metano y que los datos obtenidos son de confianza, aunque, hace falta realizar más investigaciones a fondo; por otro lado, Boré *et al.* (2022) aseguraron que la distancia, el ángulo de medición, y la cercanía de un animal adyacente no genera efecto alguno en los datos obtenidos con el detector láser al medir las concentraciones de metano en vacas lecheras; si bien su punto de medición para la obtención de los datos en la mayoría de los casos han sido los orificios nasales de los bovinos, no se han realizado experimentos en animales con cánula ruminal. Por lo que el objetivo del presente estudio fue evaluar las concentraciones de metano en el cuerpo de vacas con cánula ruminal para determinar si los valores obtenidos dan lecturas falsas positivas para así establecer un umbral de medición para las futuras mediciones.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Los rumiantes, en especial los bovinos son una fuente importante de producción de gases efecto invernadero ya que la ganadería es responsable del 53% de CH₄ antropogénico del total del sector agrícola; para poder medir estas emisiones de CH₄

entérico se ha hecho la implementación de técnicas como lo son las cámaras de respiración y la técnica trazadora con hexafluoruro de azufre (SF_6) aunque estos métodos son confiables y con buenos resultados suelen ser invasivos y costosos, además de que se requiere de personal capacitado para poder utilizarlos.

JUSTIFICACIÓN

Por lo que se usó el detector LaserMethane mini de uso industrial el cual medirá las concentraciones de CH_4 en el rumen de vacas con cánula ruminal de una manera menos invasiva.

OBJETIVOS

General

Evaluar la concentración de metano al realizar mediciones con el LMm en el cuerpo de vacas fistuladas por ambos flancos.

Específico

Establecer un umbral de medición para descartar valores falsos positivos de metano con el LMm.

HIPÓTESIS

General

El LMm detecta mayor concentración de metano en el flanco izquierdo que en el derecho.

Específica

El LMm proporciona valores mínimos de metano que pueden considerarse como falsos positivos.

MATERIAL Y MÉTODOS

Ubicación, animales y equipo

La investigación se realizó en la granja experimental del programa de Ganadería y en el Laboratorio de Microbiología Ruminal y Genética Microbiana del Colegio de Postgraduados, Campus Montecillo, Texcoco, Estado de México; se utilizaron cinco vacas secas con cánula ruminal, en el Cuadro 6 se muestran las características de cada una.

Cuadro 6. Características de las vacas secas.

Raza	Arete	Edad (años)	Peso (kg)	Tiempo con cánula
Jersey	00	4 ½	460	2 años
Holstein	394	3	678	3 semanas
Holstein	191103	2	468	3 semanas
Holstein	191107	2	381	1 mes
Holstein	191109	2	433	1 mes

Equipo

Se usó el quipo LaserMethane mini (LMm), modelo SA3C32A, de la marca CROWCON, del año 2015 hecho en Japón, para medir las concentraciones de metano en vacas canuladas secas.

Alimentación y manejo

La alimentación de las vacas se dividió en dos horarios 08:00 am y 04:00 pm, ésta consistió en alfalfa achicalada, avena henificada, ensilado de maíz, concentrado comercial Purina®, sales minerales y agua *ad libitum* en bebederos automáticos de la marca Delaval® con 1.50 m de largo y 0.70 m de ancho, el comedero era de cemento con una elevación de 0.40 m del piso, que se encontraba fuera del corral, en el Cuadro 7 se muestran las cantidades de alimento que se les suministró.

Cuadro 7. Dieta por día para las vacas secas.

Ingredientes	Cantidad/d
Alfalfa achicalada	2 pacas (peso de 30 kg cada una)
Avena henificada	2 pacas (peso de 30 kg cada una)
Silo de maíz	24 kg (12 kg en el día y 12 kg en la tarde)
Concentrado	40 kg
Sales minerales	<i>ad libitum</i>
Agua	<i>ad libitum</i>

La dieta era suministrada para cinco vacas.

El manejo de las vacas se realizaba dentro de un corral techado con 30 m de largo y 5 m de ancho, de lunes a viernes a las 11:00 am, se iniciaba con la sujeción del animal y posteriormente el acicalamiento con cepillos por un tiempo de 15 min por animal; cada tercer día a las 12:00 pm se les realizó un baño.

Mediciones flanco izquierdo y flanco derecho

Las vacas fueron sujetadas, posteriormente la toma de datos para la detección de metano se hizo en el flanco izquierdo y derecho, el detector láser se colocó en posición horizontal a 1 m de distancia por un tiempo de 10 s, en siete regiones corporales: región del morro (R. M.), región del ijar (craneal (R. CRAL. I.), caudal (R. CADL. I.), central (C. I.), dorsal (R. DOR. I.) y ventral (R. VENT. I.)), región de la cánula (craneal (R. CRAL. C.), caudal (R. CADL. C.), central (C. C.), dorsal (R. DOR. C.) y ventral (R. VENT. C.)) y región del ano (R. A.) (Figura 12).

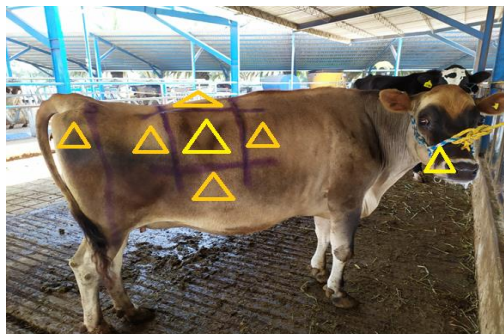


Figura 12. Regiones de medición del lado derecho de las vacas

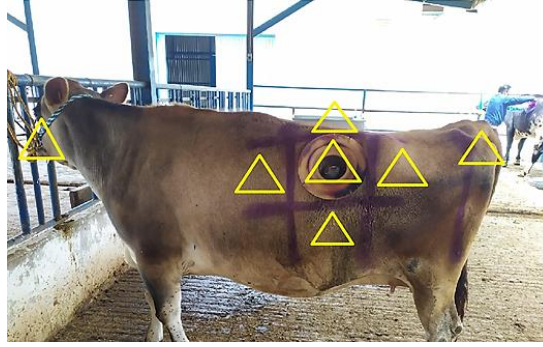


Figura 13. Regiones de medición del lado izquierdo de las vacas.



Figura 14. Posición del equipo LMm para medir las concentraciones de metano del flanco izquierdo de las vacas secas canuladas.



Figura 15. Posición del equipo LMm para medir las concentraciones de metano del flanco derecho de las vacas secas canuladas.

En este experimento se consideraron valores mínimos y máximos para poder determinar el umbral de medición.

Análisis estadístico

Se utilizó un diseño de estadística descriptiva donde se analizaron media, desviación estándar y coeficiente de variación, todos los datos obtenidos fueron vaciados y analizados en el programa Excel.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En el Cuadro 8 se muestran las medias de las concentraciones de metano del flanco izquierdo de las cinco vacas en las siete regiones donde se tomaron las lecturas con valores mínimos y máximos para cada una. Se encontró que la media más alta fue tomada en el C. C. con 62.9 ppm lo que puede explicarse debido a una fuga de gas en los tapones de las cánulas, posteriormente le siguió la R. M. con 27.05 ppm, ya que el metano producido en el rumen es expulsado a través de los pulmones, por la respiración y el eructo (McChaughey *et al.*, 1999); en la R. A. el láser detectó la menor concentración de metano con 12.25 ppm, seguido de la R. VENT. C. con 14.95 ppm, la R. CRAL. C. con 17.05 ppm, la R. DOR. C. con 19.75 ppm y por último R. CADL. C. con 20.55 ppm,

si bien todos los anteriores tuvieron valores por debajo de los de la R. M y de C. C. los dos últimos fueron los de mayor concentración, debido a que las vacas con cánula ruminal presentan fugas de gas en el área donde ésta se encuentra.

Cuadro 8. Medias totales de las concentraciones de metano del flanco izquierdo de las vacas secas canuladas con el equipo LMm.

Ubicación		Media	D.E.	C.V.	Max [‡]	Min [∞]
R. M.	Max	27.05	30.40	112.38	141	9
	Min	4	2.99	74.78	11	0
R. CRAL. C.	Max	17.05	6.15	36.08	31	9
	Min	1.4	1.39	99.41	4	0
C. C.	Max	62.9	59.58	94.72	198	10
	Min	3.6	3.86	107.17	17	0
R. CADL. C.	Max	20.55	9.98	48.57	41	9
	Min	2.4	1.73	72.04	7	0
R. DOR. C.	Max	19.75	6.63	33.58	37	12
	Min	2.1	1.71	81.61	6	0
R. VENT. C.	Max	14.95	6.17	41.26	34	8
	Min	1.65	1.81	109.96	8	0
R. A.	Max	12.25	4.31	35.22	24	7
	Min	2.05	2.06	100.69	7	0

R. M., región el morro; R. CRAL. C., región craneal de la cánula; C. C., centro de la cánula; R. CADL. C., región caudal de la cánula; R. DOR. C., región dorsal de la cánula; R. VENT. C., región ventral de la cánula; R. A., región del ano; Max, lectura máxima; Min, lectura mínima; D. E., desviación estándar; C. V., coeficiente de variación; Max[‡], valor máximo encontrado en todas las vacas; Min[∞], valor mínimo encontrado en todas las vacas.

Por otro lado, al comparar las dos medias más altas de las concentraciones de metano del flanco izquierdo con el flanco derecho (Cuadro 9) se encontró que la región C. I. fue 74.97% menor con relación a la zona del C. C ya que en esta parte no se encontraba ninguna cánula por donde hubiera alguna fuga de gas porque el rumen se encuentra del lado izquierdo, mientras que para la R. M. las concentraciones de metano fueron cercanas con una diferencia tan sólo de 8.7%. En el capítulo 2 de la presente investigación al medir las concentraciones de metano en el morro en posición recta frente a las vacas donde el LMm tomaba los valores de ambos orificios nasales, se encontró que estos eran mayores (43.2 y 92.8 ppm para la menor y la mayor de las medias respectivamente) con respecto a cuando se tomó la concentración de un solo flanco con 27.05 ppm para R. M. del flanco izquierdo (Figura 14) y 24.7 ppm para R. M. del flanco

derecho (Figura 15), mientras que Boré *et al.* (2022) afirmaron que al tomar las lecturas en los orificios nasales con el equipo láser, el ángulo de medición (90° y 45°) no influyó en cuanto a la obtención de las concentraciones ya que éstas se mantuvieron en 106.0 y 108.5 ppm respectivamente.

Con respecto a las áreas restantes del flanco derecho, la R. DOR. I. tuvo una media de 20.2 ppm, si se compara con el flanco izquierdo se encontró que hubo una diferencia tan solo del 2.23% siendo mayor la del flanco derecho, lo que se debió a que el metano al ser un gas es volátil y el láser lo detectó en la R. DOR. I.; mientras que para la R. A., R. VENT. I., R. CRAL. I. y R. CADL. I. fueron de 13.7 ppm, 12.25 ppm, 12.2 ppm, 11.65ppm respectivamente. En la literatura no se encuentran evidencias de estudios realizados que señalen que el metano es expulsado por la transpiración de los bovinos, por lo que se consideró establecer un umbral de medición de 0 a 100 ppm, además de no considerar los valores mínimos como muestras representativas, ni lecturas máximas que se encuentren dentro del umbral.

Cuadro 9. Medias totales de las concentraciones de metano del flanco derecho de las vacas secas canuladas con el equipo LMm.

Ubicación		Media	D.E.	C.V.	Máx. [‡]	Mín. [∞]
R. M.	Máx.	24.7	23.11	93.56	105	10
	Mín.	5.35	6.56	122.69	28	0
R. CRAL. I.	Máx.	11.65	3.28	28.16	21	7
	Mín.	1.55	2.19	141.15	9	0
C. I.	Máx.	15.75	18.74	118.98	93	6
	Mín.	2.4	1.54	63.98	7	0
R. CADL. I.	Máx.	12.2	3.71	30.39	24	7
	Mín.	2.95	2.09	70.83	6	0
R. DOR. I.	Máx.	20.2	10.36	51.29	50	7
	Mín.	1.1	1.07	97.38	3	0
R. VENT. I.	Máx.	12.25	6.56	53.55	30	6
	Mín.	3.1	4.38	141.15	18	0
R. A.	Máx.	13.7	8.23	60.10	45	7
	Mín.	2.2	2.86	129.91	10	0

R. M., región del morro; R. CRAL. I., región craneal del ijar; C. I., centro del ijar; R. CADL. I., región caudal del ijar; R. DOR. I., región dorsal del ijar; R. VENT. I., región ventral del ijar; R. A., región del ano; Máx., lectura máxima; Mín., lectura mínima; D. E., desviación estándar; C. V., coeficiente de variación; Máx.[‡], valor máximo encontrado en todas las vacas; Mín.[∞], valor mínimo encontrado en todas las vacas.

CONCLUSIÓN

Los resultados muestran que en el flanco izquierdo el LaserMethane mini detecta en la zona de la cánula una fuga de gas en las vacas con fístula ruminal, como resultado en las regiones centro, craneal, caudal y ventral el equipo percibe la mayor concentración de metano del mismo flanco, al igual que el área del morro.

El LaserMethane mini mostró que las emisiones de metano son mayores en las regiones dorsal del ijar y ano del flanco derecho con respecto al flanco izquierdo.

BIBLIOGRAFÍA

Boré, R., Bruder, T., El Jabri, M., March, M., Hargreaves, P. R., Rouillé, B., ... & Chagunda, M. G. (2022). Measurement duration but not distance, angle, and neighbour-proximity affects precision in enteric methane emissions when using the laser methane detector technique in lactating dairy cows. *Animals*, 12 (10), 1295.

Chagunda, M. G. G., Ross, D., & Roberts, D. J. (2009). On the use of a laser methane detector in dairy cows. *Computers and Electronics in Agriculture*, 68 (2), 157-160.

Flachowsky, G., & Kamphues, J. (2012). Carbon footprints for food of animal origin: what are the most preferable criteria to measure animal yields? *Animals*, 2 (2), 108-126.

McCaughey, W. P., Wittenberg, K., & Corrigan, D. (1999). Impact of pasture type on methane production by lactating beef cows. *Canadian Journal of Animal Science*, 79 (2), 221-226.

CAPÍTULO 6: USO DE UN EQUIPO LÁSER PARA ESTIMAR LAS EMISIONES DE METANO EN EL RUMEN DE VACAS CON CÁNULA RUMINAL

INTRODUCCIÓN

En la actualidad, las emisiones de gases efecto invernadero han incrementado, lo que ocasiona un aumento en la temperatura de la tierra (Ballesteros y Aristizabal., 2007), uno de los principales emisores de gas metano de origen antropogénico es el sector ganadero, principalmente los rumiantes en especial los bovinos, ya que la fermentación entérica ocupa el 29% de producción total (Global Methane Initiative,s.f.). Uno de los principales gases de efecto invernadero (GEI) es el metano (CH₄) ya que tiene un potencial de calentamiento de 25 a 28 veces más que el CO₂ (IPCC, 2013). Para poder medir las emisiones de metano se buscan técnicas novedosas que ayuden a detectar el gas en menor tiempo; el LaserMethane mini (LMm) es un detector portátil compacto para la detección de gas metano a una distancia segura (0-100 m) en dirección hacia la supuesta fuga con tecnología láser, ideal para usar en entornos industriales, comerciales y de investigación (CROWCON, 2020). En las dos últimas décadas, se realizaron investigaciones sobre la utilidad de un detector láser de gas metano y se concluyó que los detectores de metano láser cuantifican la dinámica del CH₄ en concentraciones exhaladas por vacas lecheras (Chagunda *et al.*, 2009). En el presente experimento se realizaron pruebas previas con el LMm para probar si éste detectaba concentraciones de CH₄ en vacas lecheras, becerros y vacas secas con cánula ruminal, donde se encontró que el LMm es capaz de detectar este gas en algunas zonas específicas de los animales. Para esta investigación el objetivo fue evaluar la exactitud y precisión de dicho equipo para realizar mediciones directas en el rumen de vacas con cánula ruminal y extraer el gas en bolsas Tedlar.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Existen técnicas conocidas para la detección de gas metano en rumiantes, en especial en el ganado bovino, una de éstas es la cámara calorimetría o cámaras de respiración considerada “el estándar de oro” ya que es una de las más exactas y certeras en cuanto

a los resultados obtenidos, sin embargo, el uso y la implementación de ésta lleva consigo costos de producción elevados, requiere de personal capacitado, y mide los gases únicamente de un animal a la vez, si bien, los trabajos que se han realizado con un equipo láser en cuanto a la detección de gas metano en el ganado lechero fueron en animales enteros, no se ha experimentado del lado de los animales fistulados con cánula ruminal.

JUSTIFICACIÓN

Lo que ha llevado a la búsqueda de una técnica confiable que permita detectar el metano entérico en bovinos con cánula ruminal de manera sencilla y práctica.

OBJETIVOS

General

Estimar con el equipo LaserMethane mini las concentraciones de gas metano entérico en vacas con cánula ruminal.

Específicos

Medir con el equipo LaserMethane mini las concentraciones de metano en bolsas de biogás llenadas con gas extraído de las vacas con cánula ruminal.

HIPÓTESIS

General

El LaserMethane mini puede detectar concentraciones de metano entérico en vacas con cánula ruminal.

Específicas

El LaserMethane mini detecta concentraciones de metano en bolsas de biogás llenadas con gas extraído de vacas con cánula ruminal.

MATERIAL Y MÉTODOS

El trabajo se realizó en la granja experimental del programa de Ganadería y en el Laboratorio de Microbiología Ruminal y Genética Microbiana del Colegio de Postgraduados, Campus Montecillo, Texcoco, Estado de México; se usaron cinco vacas con cánula ruminal de la raza Holstein y Jersey, en el Cuadro 10 se muestran algunas de las características de cada vaca, para el manejo de los animales se usó el reglamento para el uso y cuidado de animales destinados a la investigación aprobado en el año 2019 en el Colegio de Postgraduados.

Cuadro 10. Características de las vacas en experimentación.

Raza	Edad (años)	Peso (kg)	Tiempo con cánula
Jersey	4 ½	460	2 años
Holstein	3	678	2 meses
Holstein	2	468	2 meses
Holstein	2	381	3 meses
Holstein	2	433	3 meses

Alimentación y manejo

La alimentación de las vacas se dividió en dos horarios 08:00 am y 04:00 pm, la cual consistió en alfalfa achicalada, avena henificada, ensilado de maíz, concentrado para vacas lecheras de la marca Purina, sales minerales y agua *ad libitum* en bebederos automáticos de la marca Delaval con 1.50 m de largo y 0.70 m de ancho, el comedero era de cemento con una elevación de 0.40 m del piso que se encontraba fuera del corral, en el Cuadro 11 se muestran las cantidades de alimento que se les suministro, estas cantidades fueron para las cinco vacas.

Cuadro 11. Dieta de las vacas con cánula ruminal.

Ingredientes	Cantidad/ d
Avena henificada	2 pacas (cada paca de 30 kg)
Silo de maíz	30 kg (2 veces/d)
Concentrado	24 kg (12 kg en el mañana y 12 kg en la tarde)
Sales minerales	<i>ad libitum</i>
Agua	<i>ad libitum</i>

El manejo de las vacas se realizó de lunes a viernes a las 07:00 am y 11:00 am dentro de un corral techado con 30 m de largo y 5 m de ancho, las vacas contaban con una cánula de 4 in marca Diamond, se daba inicio con la sujeción del animal y posteriormente cada vaca se acicalaba con un cepillo de cerdas de plástico por un tiempo de 15 min por animal; cada tercer día se les realizó un baño a las 12:00 pm; esto con la finalidad de poder adiestrar las vacas recién canuladas (Figura 16).



Figura 16. Cepillado de las vacas canuladas para su adiestramiento.

Preparación del tapón de cánula

Se prepararon cinco tapones (Figura 17), uno para cada vaca; se calentó un tubo de 4 mm de grosor para realizar un orificio en la parte más alta del tapón, se introdujo un niple de espiga de bronce de 5/32 in de diámetro y 1.5 in de largo y posteriormente se colocaron dos tramos de manguera tipo Tygon (con diámetro interno 4 mm, diámetro externo 7.1 mm y grosor 1.6 mm) de 2 cm de largo en cada lado del niple para tener un mayor soporte, al extremo de manguera que sobresalía del tapón se le colocó una punta de 200 μ L para Eppendorf previamente sellada de la punta para evitar la salida del gas (Figura 18).



Figura 17. Tapones preparados para las cinco vacas con cánula ruminal.



Figura 18. Preparación de los tapones de las cánulas para la extracción de gas entérico.

Preparación de las bolsas de biogás

Se le colocaron de 2 a 3 cm de manguera Tygon en el extremo de la salida del gas para poder vaciar el gas extraído del rumen dentro de la bolsa (Figura 19).



Figura 19. Preparación de las bolsas de biogás para el llenado con gas extraído del rumen en vacas con cánula ruminal.

Recolecta del gas

La recolecta de gas se realizó dos veces al día por vaca durante 10 d, la primera antes del consumo de alimento y la segunda 4 h después de este; para extraer el gas se utilizó una jeringa de 60 ml de la marca TERUMO, la punta se colocó dentro del extremo de manguera que sobresalía del tapón de la cánula, se procedió a extraer el gas con la jeringa e introducirlo dentro de la bolsa (Figura 20). Con ayuda de otra persona se abrió la válvula que contenía la bolsa y una vez que se introdujo el gas de inmediato se cerraba (Figura 21). Todas las bolsas fueron llenadas con 15 jeringas de gas para poder obtener una cantidad suficiente de éste.



Figura 20. Extracción del gas metano en vacas canuladas.



Figura 21. Introducción del gas extraído del rumen de las vacas canuladas a las bolsas de biogás.

Medición de gas metano en el orificio ruminal

Para la medición de gas directo del rumen, se retiró el tapón de la cánula, con el Laser Methane mini (LMm), modelo SA3C32A, de la marca CROWCON en posición horizontal en dirección a la parte más alta del rumen, se realizaron dos lecturas por día durante 10 d a una distancia de 1 m por un periodo de 10 s (Figura 22).



Figura 22. Toma de lecturas con el LMm en las vacas con cánula ruminal.

Medición de gas metano en bolsas de biogás

Las lecturas de gas entérico de las bolsas se realizaron dentro del laboratorio de Microbiología ruminal y Genética microbiana, se colocó un soporte universal para poder sostener la bolsa de gas (se acomodaron dos pinzas en cada extremo de la bolsa para mantenerla fija) dentro de una campana de flujo laminar marca LABCONCO, modelo Class II Tyte A2, además detrás de ésta se situó una hoja blanca para evitar la reflexión del láser (Figura 23). Las mediciones se realizaron con el láser en posición horizontal, en dirección al centro de la bolsa a 2 m de distancia durante 10 s (Figura 24).



Figura 23. Colocación de la bolsa de biogás dentro de la campana de flujo laminar para la medición con el LMM.

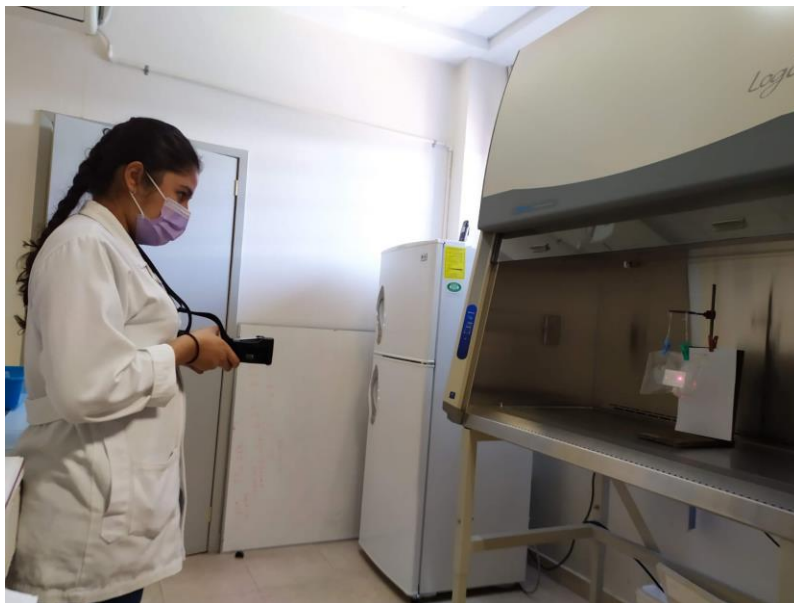


Figura 24. Toma de lecturas con el equipo LMM en bolsas de biogás llenadas con metano entérico de vacas con cánula ruminal.

Análisis estadístico

Para el análisis estadístico de las mediciones de las bolsas de biogás y las lecturas tomadas directamente del rumen se utilizó un diseño completamente al azar, se usó el procedimiento GLM de SAS (2017) y la comparación de medias fue con el método de Tukey ($\alpha < 0.05$).

El modelo fue:

$$Y_{ij} = \mu + T_i + \varepsilon_{ij} \quad i=1, 2 \text{ t} \quad j= 1, 2, 3, 4, 5 \text{ r}$$

Donde:

- Y_{ij} = Variable de respuesta en el i-ésimo tratamiento y j-ésimo repeticiones.
- μ = Media general.
- T_i = Efecto del tratamiento i.
- ε_{ij} = Error aleatorio.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Las mediciones que se realizaron con el equipo LMm a cánula abierta con las vacas en ayuno y 4 h después del consumo del alimento no mostraron diferencias significativas ($P \geq 0.05$) (Cuadro 12).

Cuadro 12. Medias de las concentraciones de metano entérico obtenidas con el LaserMethane mini en vacas con cánula ruminal antes del consumo de alimento (T1) y 4 h después (T2).

Tratamientos	Medias (ppm)
T1	2708.1
T2	2955.0
E.E.M	220.37

E.E.M., error estándar de la media.

Bonilla y Lemun (2012) señalan que la dieta es un factor importante para la producción de CH_4 ruminal; con base en la dieta suministrada y el tiempo establecido (4 h después del consumo de alimento) en este experimento (Cuadro 12) no hubo un incremento de CH_4 notorio.

En el capítulo 1 de esta investigación al medir con el LMm a una distancia de 1 m por un tiempo de 10 s se obtuvieron medias de 617.25 ppm (Cuadro 1) en comparación con los resultados obtenidos en este capítulo donde ésta fue 71.21% mayor, ya que en el primer experimento la toma de datos se realizó 10 min después de que la cánula estuviera abierta y esto generara la liberación de los gases.

Del mismo modo, las mediciones que se le realizaron con el LMm a las bolsas Tedlar con gas entérico que se extrajo del rumen de las vacas cuando éstas se encontraban en ayuno y 4 h después de la alimentación no presentaron diferencias significativas ($P \geq 0.05$) (Cuadro 13), sin embargo, después de la alimentación el CH_4 incremento 19.72%.

Cuadro 13. Medias de las concentraciones de metano entérico obtenidas con el LaserMethane mini en bolsas Tedlar en ayuno (T1) y 4 h posteriores al consumo de alimento (T2).

Tratamientos	Medias (ppm)
T1	3318.1 a
T2	4132.7 a
E.E.M	322.59

E.E.M., error estándar de la media.

En el capítulo 4 de esta investigación se evaluó la capacidad de retención de las bolsas Tedlar con gas comercial CH₄ al 100%, donde se obtuvieron valores de 3135.91 ppm (Cuadro 5), lo que coincide con los resultados que se encontraron durante el ayuno, aunque al compararlos con los recabados 4 h después del alimento hubo un aumento de 24.12% por que en el rumen comienza la digestión fermentativa y ésta a su vez genera una producción de gas mayor (Kinsman *et al.*, 1995).

Mientras que, cuando se comparan los resultados de las mediciones con la cánula abierta y las obtenidas al medir en las bolsas Tedlar antes y después del consumo de alimento, se observó que el metano disminuye 18.39 y 28.4% respectivamente cuando la cánula se encuentra destapada, lo que provoca una fuga de gas notoria.

CONCLUSIÓN

Las concentraciones de CH₄ entérico no se modifican durante el ayuno y 4 h posteriores al consumo de alimento cuando se mide con el LaserMethane mini en dirección al rumen y al extraer el gas y almacenarlo en bolsas Tedlar.

RECOMENDACIONES

Se sugiere evaluar con tiempos más prolongados al llevar el control cada hora hasta la siguiente alimentación.

BIBLIOGRAFÍA

Ballesteros, H. B., & Aristizabal, G. L. (2007). Información técnica sobre gases de efecto invernadero y el cambio climático. Instituto de Hidrología, Meteorología y Estudios Ambientales-IDEAM. Subdirección de Meteorología (Bogotá, Colombia). 96p.

Berra, G., Finster, L., & Valtorta, S. E. (2009). Una técnica sencilla para la medición de emisiones de metano entérico en vacas. *FAVE Sección Ciencias Veterinarias*, 8 (1), 49-56.

Bonilla Cárdenas, J. A., & Lemus Flores, C. (2012). Emisión de metano entérico por rumiantes y su contribución al calentamiento global y al cambio climático: Revisión. *Revista mexicana de ciencias pecuarias*, 3 (2), 215-246.

Chagunda, M. G. G., Ross, D., & Roberts, D. J. (2009). On the use of a laser methane detector in dairy cows. *Computers and Electronics in Agriculture*, 68 (2), 157-160.

Cobos-Peralta, M. A., Curzaynz-Leyva, K. R., Rivas-Martínez, M. I., Santillán-Gómez, E. A., & Bárcena, J. R. (2018). In vitro effect of diets for growing lambs supplemented with dried distillers grains on rumen fermentation and gas emissions. *Agrociencia*, 52 (2), 203-215.

Crowcon, detecting gas saving lives.2020. Laser methane mini [en línea]. Disponible en: <https://www.crowcon.com/products/portables/lmm-gen-2/> (revisado el 17 de junio de 2021).

Intergovernmental Panel on Climate Change. (2013). Climate change 2013: The physical science basis. Contribution of working group I to the fifth assessment report of the intergovernmental panel on climate change. Stocker, T. F., D. Qin, G. K. Plattner, M. Tignor, S. K. Allen, J. Boschung, A. Nauels, Y. Xia, V. Bex, and P.M. Midgley (eds.). Cambridge University Press. Cambridge,UK.

Kinsman, R., Sauer, F. D., Jackson, H. A., & Wolynetz, M. S. (1995). Methane and carbon dioxide emissions from dairy cows in full lactation monitored over a six-month period. *Journal of Dairy Science*, 78 (12), 2760-2766.

Global Methane Initiative (s.f.). *Emisiones mundiales de metano y oportunidades de atenuación*. Revisado el 29 de diciembre de 2023. https://www.globalmethane.org/documents/analysis_fs_spa.pdf

