# MODIFICACIÓN DE LA FERMENTACIÓN RUMINAL IN VITRO POR PRECURSORES METABÓLICOS DE LOS ÁCIDOS GRASOS VOLÁTILES[#]

S. López[1], C.J. Newbold[2], M.L. Tejido[1], O. Bochi[1] y R.J. Wallace[2]

[1] Departamento de Producción Animal. Universidad de León. 24071 LEÓN.

[2] Rowett Research Institute[‡]. AB21 9SB Aberdeen. Escocia. Reino Unido.

## INTRODUCCIÓN

En la fermentación de los alimentos en el rumen se produce una cantidad considerable de metano que es eliminado, fundamentalmente, mediante el eructo. Los precursores para la formación de metano son el dióxido de carbono y el hidrógeno que aparecen como productos finales, junto con los ácidos grasos volátiles, de la fermentación microbiana de los azúcares en el rumen. El metano constituye una pérdida de energía para el animal y, además, es un gas con efectos contaminantes sobre la atmósfera (Van Nevel y Demeyer, 1996). Por este motivo han sido numerosos los trabajos de investigación en los que se estudia la modificación de la fermentación en el rumen mediante el uso de aditivos para disminuir la producción de metano por el rumiante (Van Nevel y Demeyer, 1996). Algunos de estos aditivos actúan inhibiendo a las bacterias metanogénicas, mientras que otros determinan ciertos cambios en las reacciones metabólicas del rumen. En concreto, hay rutas metabólicas alternativas a la metanogénesis en la utilización de hidrógeno, en las que los electrones y el hidrógeno son transferidos a ciertos intermediarios metabólicos dando lugar a la formación final de ácidos grasos volátiles (AGV) (López *et al.* 1999). De esta forma, los ácidos acrílico, aspártico, fumárico y málico son intermediarios metabólicos del ácido propiónico que se comportan como aceptores de electrones. Por otro lado, el ácido α-cetoglutárico puede transformarse en ácido acético mediante reacciones metabólicas que suponen una utilización neta de hidrógeno. El objetivo de este experimento fue estudiar los cambios provocados en la fermentación ruminal *in vitro* de dos raciones para animales rumiantes, al añadir distintos precursores metabólicos al medio de cultivo.

## MATERIAL Y MÉTODOS

Se utilizaron dos raciones integrales para rumiantes formuladas ambas con los mismos alimentos, pero cambiando las proporciones de forraje y concentrado. La ración F contenía un 80% de forraje y un 20% de concentrado, siendo su composición (por kg): 750 g de alfalfa, 80 g de maíz, 70 g de cebada, 30 g de torta de soja, 30 g de melazas y 40 g de corrector vitamínico-mineral. La composición de la ración C (por kg) fue: 210 g de alfalfa, 320 g de maíz, 280 g de cebada, 120 g de torta de soja, 30 g de melazas y 40 g de corrector; de forma que la relación forraje:concentrado en esta ración fue 20:80.

[#] Trabajo subvencionado por la Acción Integrada HB1996-0150 y por un proyecto de investigación del MAFF.

[‡] El RRI está financiado por The Scottish Office Agriculture Environment and Fisheries Department.

Por otro lado se recogió líquido ruminal de cuatro ovejas adultas provistas de cánula ruminal y alimentadas con heno de alfalfa. El líquido ruminal fue filtrado a través de cuatro capas de gasa y añadido al medio de cultivo en una proporción de 1:4 (v/v). El medio de cultivo empleado fue el descrito por Goering y Van Soest (1970) que consiste en una mezcla de sales minerales en una disolución amortiguadora. La preparación del medio de cultivo y la adición de líquido ruminal se realizaron en condiciones de anaerobiosis. Para las incubaciones in vitro se utilizaron viales de 120 mL, en cada uno de los cuales se pesaron aproximadamente 300 mg de materia seca (MS) de la ración correspondiente, se dosificaron 44 mL de líquido ruminal diluido y se añadió 1 mL de una de las disoluciones preparadas previamente de cada uno de los aditivos (la cantidad de aditivo añadido fue en todos los casos de 0,4 mmol). Los aditivos utilizados fueron los siguientes ácidos: acrílico, aspártico, fumárico, α-cetoglutárico, málico y propiónico (en forma de sales sódicas o potásicas adquiridas de Sigma Química). En los viales control se añadió 1 mL de agua destilada. Los viales se precintaron con cápsulas de aluminio y se colocaron inmediatamente en un incubador a 39° C. A las 24 h de incubación, la fermentación ruminal se detuvo mediante la adición de 1 mL de una disolución saturada de HgCl2. Se midió la producción de gas y la composición del gas del espacio de cabeza del vial mediante cromatografía de gases. Posteriormente se abrieron los viales, se midió el pH en el medio de incubación y se tomó una muestra para la determinación de las concentraciones de AGV mediante cromatografía de gases. Por último se filtró el contenido del vial en un crisol de placa filtrante, secando el residuo de incubación en estufa a 55° C, y se calculó la desaparición de materia seca (MS) tras 24 h de incubación. La incubación se repitió en tres días no consecutivos, en cada uno de los cuales se utilizaron tres réplicas para cada aditivo y ración. Los valores medios de cada parámetro para cada tratamiento se compararon con los del tratamiento control y con los obtenidos con el propionato mediante el test de Dunnett.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados obtenidos para cada una de la raciones utilizadas se muestran en la Tabla 1. La adición de propionato al medio de cultivo dio lugar a la acumulación de ácido propiónico y, consecuentemente, a un aumento de la cantidad total de AGV en el medio de incubación con ambas raciones, sin cambios en la producción de metano. Todos los aditivos resultaron en un aumento de la producción de AGV en relación al tratamiento control, indicando que los aditivos utilizados fueron transformados, de una u otra forma, en AGV. El α-cetoglutarato fue transformado, fundamentalmente, en ácido acético. El resto de aditivos utilizados fueron transformados parcialmente en ácido propiónico ya que la acumulación de este ácido fue mayor que en el tratamiento control. No obstante, dicha transformación no fue total, ya que la concentración de propiónico en el medio de incubación fue menor en todos los casos que la observada cuando se añadía directamente una cantidad equimolar de propionato.

La adición de acrilato pudo haber inducido a una depresión en la fermentación de la ración C, ya que con este aditivo se observaron valores inferiores de desaparición de la MS y de pH en el medio de incubación, en relación al tratamiento control.

Tabla 1.- Efecto de la adición de precursores metabólicos de los ácidos grasos volátiles (AGV) sobre la desaparición de materia seca (DMS), el pH y la formación de productos de fermentación después de 24 h de incubación en cultivos in vitro de dos raciones con diferente proporción de forraje y concentrado.

| | DMS (g/kg) | pH | AGV (μmol/d) | Acético (μmol/d) | Propiónico (μmol/d) | Metano (μmol/d) |
|---|---|---|---|---|---|---|
| A) *Ración F (80% Forraje + 20% Concentrado)* | | | | | | |
| **Control** | 678 | 6,45 | 1949 | 1157 | 486 | 465 |
| **Acrilato** | 673 | 6,45 | 2248 [ab] | 1324 [a] | 717 [ab] | 417 [ab] |
| **Aspartato** | 693 | 6,50 [ab] | 2527 [a] | 1352 [a] | 852 [ab] | 440 [ab] |
| **Fumarato** | 682 | 6,49 [ab] | 2521 [a] | 1359 [ab] | 839 [ab] | 441 [ab] |
| **Cetoglutarato** | 694 | 6,45 | 2458 [a] | 1572 [ab] | 542 [b] | 428 [ab] |
| **Malato** | 696 | 6,50 [ab] | 2394 [a] | 1288 [a] | 795 [ab] | 448 [ab] |
| **Propionato** | 684 | 6,45 | 2519 [a] | 1232 | 964 [a] | 471 |
| **e.s.d.** | 9,6 | 0,006 | 75,7 | 47,6 | 25,1 | 5,2 |
| B) *Ración C (20% Forraje + 80% Concentrado)* | | | | | | |
| **Control** | 784 | 6,39 | 2415 | 1365 | 683 | 497 |
| **Acrilato** | 736 [ab] | 6,35 [ab] | 2402 [b] | 1420 | 723 [b] | 465 [ab] |
| **Aspartato** | 788 | 6,45 [ab] | 2787 [a] | 1401 | 1008 [ab] | 479 [a] |
| **Fumarato** | 784 | 6,45 [ab] | 2724 [a] | 1383 | 964 [ab] | 485 |
| **Cetoglutarato** | 791 | 6,38 | 2875 [a] | 1741 [ab] | 737 [b] | 484 |
| **Malato** | 792 | 6,45 [ab] | 2711 [a] | 1377 | 907 [ab] | 502 |
| **Propionato** | 791 | 6,38 | 2856 [a] | 1335 | 1145 [a] | 494 |
| **e.s.d.** | 8,7 | 0,005 | 70,9 | 41,6 | 25,4 | 6,0 |

e.s.d. : error estándar de la diferencia

a Diferencia significativa ($P < 0,05$) con el tratamiento control

b Diferencia significativa ($P < 0,05$) con el valor observado con el propionato

El resto de aditivos no afectaron significativamente ($P>0,10$) a la digestión de la ración. Todos los aditivos dieron lugar a una menor ($P<0,05$) producción de metano con la ración F, pero este efecto no fue significativo en el caso de la ración C. Este efecto variable y dependiente del tipo de ración, puede deberse a las variaciones en la población microbiana y metabolismo ruminal inducidas por el tipo de sustrato fermentado (López et al. 1999). Los sustratos que son degradados más rápidamente y en mayor medida (carbohidratos no estructurales) dan lugar a una menor producción relativa de metano y a un descenso en el pH ruminal. En conclusión, los intermediarios metabólicos de AGV en el rumen pueden inducir una reducción en la producción de metano en incubaciones in vitro de raciones con una mayor proporción de forraje, siendo menos efectivos con dietas con una alta proporción de alimentos concentrados.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS


Goering, M.K. y Van Soest P.J. 1970. *Forage Fiber Analysis* (apparatus, reagents, procedures and some applications). Agricultural Handbook No. 379, USDA, Washington DC.

López, S., Valdés, C., Newbold, C. J. y Wallace, R. J. 1999. Influence of sodium fumarate addition on rumen fermentation *in vitro*. *British Journal of Nutrition* **81**: En prensa.

Van Nevel, C.J. y Demeyer, D.I. 1996. Control of rumen methanogenesis. *Environmental Monitoring and Assessment* **42:** 73-97.