# EFECTO DEL pH Y SUS FLUCTUACIONES EN LA FERMENTACIÓN MICROBIANA EN CULTIVO CONTINUO

**S. Calsamiglia, A. Ferret, J. Plaixats, M. Devant.**
**Dpt. Patologia i Producció Animals. Universitat Autònoma de Barcelona. 08193-Bellaterra.**

## INTRODUCCIÓN

El vacuno lechero de alta producción requiere el aporte de raciones con elevado contenido energético que se consiguen con el aumento en el aporte de concentrado. El exceso de concentrado conlleva una reducción del pH, de la digestibilidad de la fibra y de la concentración de acetato en el rumen. Estas condiciones conducen a la reducción de la ingestión, y de la producción total y el contenido graso de la leche (Sutton, 1982). El efecto del pH sobre la fermentación microbiana se ha estudiado *in vitro* e *in vivo* (Van Nevel y Demeyer, 1988). Los estudios *in vitro* han sido en la mayoría de los casos en sistemas cerrados e incubaciones relativamente cortas, en las que la inhibición del metabolismo por los productos finales de fermentación, o el escaso tiempo de adaptación de la población microbina a las condiciones de fermentación limitan su utilidad. En los estudios *in vivo*, las modificaciones del pH se confunden con los efectos del tipo de ración y la forma de administración, o la adición de sustancias tampón que, además de modificar el pH, alteran las condiciones del medio y pueden modificar el ritmo fraccional de paso (Van Nevel y Demeyer, 1988). El uso de cultivos continuos de flujo doble permite el estudio aislado del pH eliminando los efectos de la ración, de los ritmos fraccionales de paso, y la inhibición del metabolismo por los productos finales de la fermentación, al tiempo que permite la adaptación de la flora microbiana al proceso fermentativo.

El objetivo de este trabajo es determinar el efecto del pH y sus fluctuaciones en la fermentación ruminal en cultivo continuo de flujo doble.

## MATERIAL Y MÉTODOS

Se utilizaron ocho fermentadores continuos de flujo doble modificados a partir del modelo propuesto por Hoover et al. (1976). El sistema consiste en vasos de fermentación (1400 ml) en los que se controla la temperatura, el pH, la velocidad de mezclado, el suministro de alimento y la tasa fraccional de paso de sólidos y líquidos. El control de temperatura se realiza mediante un termopar T y una resistencia (70W). El control de pH se realiza con un pH-metro transmisor y dos mini-bombas peristálticas que infunden ácido o base. El contenido del fermentador se mantiene en constante agitación con una mezclador magnético. El alimento se administra de forma semicontinua con un alimentador de pistones. La infusión de saliva y la succión de la fracción líquida se realiza con dos bombas peristálticas de ocho canales. El filtrado se obtiene a través de un filtro metálico (100 mesh). La fracción sólida fluye a través de una salida lateral superior del fermentador. El control de los parámetros de las ocho unidades se realiza a través de un PC y un PLC (FieldPoint, National Instruments, USA). La programación de los controles de alimentación, temperatura y pH se realiza a través del programa informático LabView

(LabView, USA). Las condiciones experimentales fueron establecidas de la siguiente manera: Temperatura constante (39ºC), mezclado contaste (200 rpm), alimentación semicontinua (aproximadamente 0,7 g cada 10 minutos), tasa de dilución de la fracción sólida del 5%/h, y de la fracción líquida del 10%/h. El pH varió entre fermentadores según el tratamiento.

Todos los fermentadores recibieron 100 g de materia seca de una misma ración que cumplía las necesidades mínimas establecidas por el NRC (1989) para una vaca de 650 kg produciendo 35 litros de leche estándar, y consistía en: 60% heno de alfalfa, 17% harina de maíz, 8,6% de harina de cebada, 5% de harina de soja, 3,4% de melazas, 1,1% de girasol, 1,1% de guisante, 1,1% de altramuz, 1,1% de glutenfeed, y 2,5% de minerales y vitaminas. Los tratamientos fueron: pH constante a 6,4 (A); pH constante a 5,7 (B); oscialciones de pH regulares, con 4 h a pH 6,5, y 4 h a pH 5,7 (AB); pH constante a 6,4, con dos bajadas diarias de pH a 5,7 y recuperación en 3 horas (Ab). El experimetno consistió en dos periodos repetidos. Cada periodo consistió en 5 días de adaptación y 3 para muestreo. El primer día del experimento, se obtuvieron 12 litros de líquido ruminal de dos vacas canuladas utilizando una bomba de vacío. El líquido obtenido se filtró con 4 capas de gasa, se inoculó en los fermentadores y se asignaron los tratamientos de forma aleatoria. En los días de muestreo, los efluentes se mantuvieron constantemente en refrigeración. Los efluentes sólidos y líquidos se mezclaron y homogenizaron, obteniendose una muestra de cada fermentador por aspiración. Se obtuvieron tres submeustras para análisis en líquido: una conservada con HCl 0,2N para el análisis de amoníaco (Chaney y Marbach, 1962); otra conservada con ortofosfórico (5%) y cloruro de mercurio (1%) para la determinación de los ácidos grasos volátiles (AGV, Jouany, 1982); y otra sin conservantes para la determinación del N total. El resto se liofilizó. Sobre la muestra liofilizada se analizó materia seca y cenizas (AOAC, 1990), y fibras ácido y neutro detergentes (Van Soest et al., 1991). Los resultados se analizaron estadísticamente utilizando el PROC GLM de SAS (1996) con un modelo de bloques totalmente aleatorio, y las medias se separaron utilizando el test de Tukey.

## RESULTADOS Y DISCUSION

La tasa media de dilución de la fracción líquida fue de 9,93%/h (CV=0,08%), y de la fracción sólida de 4,94%/h (CV=0,16%). El control de temperatura permitió mantener la media a 38,9ºC (CV=0,4%), y el pH se mantuvo en los márgenes programados (CV<0,001%). Estos datos indican que el sistema de control permite mantener las condiciones de la fermentación reguladas con una precisión excelente.

La ración ofrecida contenía 18,9% de PB, 36,6% FND y 17,6% FAD. Los resultados se presentan en la Tabla 1. El pH afectó ($P<0,05$) a la digestibilidad de la FND que fue menor en B, intermedia en AB, y mayor en A y Ab. La digestibilidad de la FAD siguió la misma evolución, pero las diferencias no fueron significativas ($P<0,09$). La reducción en la digestibilidad de estos componentes en B se reflejó con una importante reducción en la cantidad total de AGV (mM), y en la proporción de acetato y la relación acetato:propionato. El N amoniacal fue mayor ($P<0,05$) en los tratamientos A y Ab. La misma

tendencia se observó con la producción total de AGV ramificados, siendo mayores (P<0,05) en los tratamientos A, AB y Ab, y menores en B.

Tabla 1: Efecto del pH y sus fluctuaciones sobre la fermentación microbiana en cultivo continuo

| | A | B | AB | Ab | ES |
|---|---|---|---|---|---|
| N-NH3, mg/100 ml | 20,4[a] | 11,9[c] | 15,8[b] | 17,8[ab] | 0,76 |
| Digestión FND, % | 53,8[a] | 37,4[b] | 46,1[ab] | 53,3[a] | 3,4 |
| Digestión FAD, % | 51,7 | 34,7 | 48,1 | 54,3 | 4,9 |
| Acidos grasos volátiles | | | | | |
| Totales, mM | 144,0[a] | 105,3[b] | 117,2[ab] | 141,4[a] | 9,78 |
| Ramificados, mM | 2,43[a] | 0,58[b] | 1,67[ab] | 2,12[a] | 0,33 |
| Acetato, % | 72,2[a] | 56,3[b] | 66,3[a] | 70,3[a] | 1,9 |
| Propionato, % | 14,9[b] | 28,9[a] | 20,0[b] | 17,0[b] | 1,5 |
| Acetato:Propionato | 4,86[a] | 2,02[c] | 3,32[b] | 4,15[ab] | 0,23 |

[ab] Medias con superíndices distintos en la misma columna difieren (P<0.05).

La reducción en el N amoniacal y en los AGV ramificados, que proceden de la degradación microbiana de aminoácidos, sugiere que la reducción del pH afectó a la degradabilidad de la proteïna.

Los datos demuestran el efecto de la acidosis sobre la digestión de la fibra, y de la producción y perfil de AGV, y coinciden con Van Nevel y Demeyer (1988). Sin embargo, el efecto de las oscilaciones periódicas de pH (AB) o de dos bajadas diarias de pH (Ab) no parece afectar de forma relevante a la fermentación microbiana, en contra de las observaciones de Sutton (1982). Estos resultados sugieren que los efectos negativos de las fluctuaciones de pH parecen depender del perfil de fermentación del concentrado administrado y/o su impacto sobre la flora microbiana, pero son independientes del pH *per se*.

## REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS


AOAC. 1990. Official methods of analsyis (15th Ed.). AOAC, Arlington, VA

Chaney, A.L., y E.P. Marbach. 1962. Clin. Chem. 8:130.

Hoover, W.H., et al. 1976. J. Anim. Sci. 43:528.

Jouany, J.P. 1982. Sci. Aliments 2:131.

NRC (1989. Nutrient requirements of Dairy Cattle, 6th Ed. Nat. Acad. Press. Washington, DC

Sutton, J.D. 1982. In: Recent developments in ruminant nutrition. Haresign & Cole (Ed). Butterworths, London.

Van Nevel, C.J., y D.I. Demeyer, 1988. In: Rumen microbial ecosystem. P.N. Hobson (Ed.) Elsevier Applied Sci., London

Van Soest, P.J., et al. 1991. J. Dairy Sci. 74:3588.