EFECTO DE LOS EXTRACTOS NATURALES SOBRE LA DEGRADACIÓN DE PROTEÍNAS Y EL PERFIL DE FERMENTACIÓN EN CULTIVOS CONTINUOS

M. Busquet[1], S. Calsamiglia[1], A. Ferret[1] y C. Kamel[2]
[1]Dept. de Ciència Animal y dels Aliments, Universitat Autònoma de Barcelona, 08193-Bellaterra, España
[2]Institute for Plant Biotechnology and Agriculture University of Leeds, UK.

INTRODUCCIÓN

La manipulación del ecosistema ruminal mediante aditivos alimentarios ha supuesto una mejora en la eficiencia de utilización de los alimentos por parte del animal. El uso de muchos de estos aditivos, especialmente los antibióticos ionóforos, se están prohibiendo en la UE por el riesgo a aparición de resistencias en bacterias. La retirada del mercado de estos aditivos ha llevado a la necesidad de buscar productos naturales alternativos que, mejorando la producción animal, no supongan ningún riesgo para la salud del consumidor.

Los extractos de plantas, como los aceites esenciales, han sido utilizados durante siglos por sus propiedades antisépticas (Cowan, 1999). Estudios con timol, yuca y antraquinona, entre otros, han mostrado su eficacia en la modificación del fermentación ruminal (Evans y Martin, 2000; Hristov *et al.*, 1999; Garcia-Lopez *et al.*,1996), aunque la información disponible sobre los efectos de muchos de estos extractos sobre la fermentación ruminal es limitada.

El objetivo del presente estudio fue determinar el efecto de 6 extractos de plantas diferentes sobre la fermentación ruminal en un sistema in vitro de doble flujo continuo.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se utilizaron 8 fermentadores (1320 ml) de flujo doble continuo desarrollado por Hoover et al. (1976) en dos períodos consecutivos de 9 días (7 días de adaptación y 2 días de muestreo) en los que se inoculó líquido ruminal procedente de una vaca canulada alimentada con una dieta 60:40 forraje:concentrado. Durante los 9 días de cada período, se suministraron a cada fermentador 95 g/día de MS de una dieta 60:40 forraje:concentrado, repartido en tres tomas al día. La temperatura (38.5ºC), el pH (6.4±0.59) y los ritmos de paso de las fracciones líquida (10%/h) y sólida (5%/h) se mantuvieron constantes.

Los tratamientos fueron: sin aditivo o control negativo (CTR), antibiótico ionóforo o control positivo, monensina (MON), extracto de *Trigonella foenumgraecum* (FEN), y los aceites esenciales de: *Juniperus oxycedrus* (CAD), *Melaleuca alternifolia* (TEA), *Anethum graveolens* (DIL), *Zingiber officinale* (GIN) y *Syzygium aromaticum* (CLO). Los extractos fueron suministrados por AXISS France SAS (AXISS FRANCE SAS, Archamps, France). Las dosis utilizadas fueron 1.75 mg/d, en el caso de la MON, y de 7.5 mg/d (x 75 la dosis comercial) para los extractos. Los tratamientos se dosificaron a cada fermentador justo un minuto antes del suministro de la comida.

Durante los días de adaptación, se recogieron, a las 2 h posteriores de la toma de comida de la mañana, 8 ml de líquido filtrado de cada fermentador para determinar la concentración de N amoniacal (Chaney y Marbach, 1962) y de ácidos grasos volátiles (AGV, Jouany, 1982). En los dos días de muestreo se recogieronb 4ml de líquido para la determinación de AGV a las 2 h post-alimentación de la mañana, y a las 0, 2, 4, 6 y 8 h para la determinación del N soluble en ácido tunstico (N-TA, Winter *et al.* 1964), del N soluble en ácido tricloroacético (TCA-N, Winter *et al.*

1964), y del N amoniacal. Los resultados fueron utilizados para el cálculo de la concentración de N peptídico, aminoacídico (AA) y amoniacal.

Los resultados fueron analizados utilizando el programa PROC MIXED, para medidas repetidas, del paquete estadístico SAS (SAS, 1996). Se determinó el efecto de los tratamientos y los días (para AGV y N amoniacal, en adaptación), o horas (para las fracciones nitrogenadas, en los días 8 y 9) de muestreo, y la interacción del tratamiento con los días o las horas. Se consideró el período como efecto bloque.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

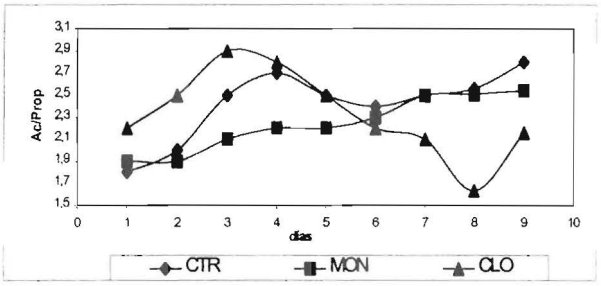
Los resultados se presentan en dos apartados diferentes: 1) Evolución de las concentraciones de N amoniacal y AGV durante los días de adaptación; y 2) Efecto de los extractos en la concentración de AGV y las fracciones nitrogenadas en los días de muestreo.

Efecto de los aditivos durante el período de adaptación

Durante los días de adaptación no se observaron efectos de los tratamientos sobre la concentración de AGV totales. Durante los días 3 a 5, la MON resultó en una disminución en la relación acetato:propionato respecto al CTR (Figura 1). Este efecto desapareció a partir del día 6 de fermentación, lo que sugiere que, a la dosis utilizada de MON, la flora microbiana se adaptó en 5 días. A partir del día 6 de fermentación, la relación acetato:propionato en CLO disminuyó respecto al CTR (Figura 1).

No se observaron efectos de los tratamientos sobre la concentración de N amoniacal (mg/100ml) durante los días de adaptación.

Figura 1. Efecto del CLO y la MON sobre la relación acetato:propionato respecto al control.



Efecto de los aditivos después del período de adaptación

No se observaron efectos de los tratamientos sobre la concentración de AGV totales. El CLO aumentó la proporción molar (mol/100mol) de propionato, y disminuyó las proporciones molares de acetato y AGV ramificados, y la relación acetato:propionato respecto al CTR (Tabla 1). El CAD también disminuyó la relación acetato:propionato respecto al CTR. La disminución observada en la relación acetato propionato sugiere una mejora en la eficiencia de utilización de los nutrientes en el rumen, ya que existe una relación inversa entre la producción de propionato y la formación de metano (Van Nevel *et al.*, 1988).

Tabla 1. Efecto de los aditivos sobre las concentraciones de los ácidos grasos volátiles.

	Tratamientos								
	CTR	MON	FEN	CAD	TEA	DIL	GIN	CLO	EE[1]
AGV totales, mM	114.1	114.1	112.9	113.1	107.1	108.4	108.0	111.3	4.92
Proporción molar, %									
Acetato	61.9^{ab}	61.1^{ab}	61.7^{ab}	60.0^{bc}	61.4^{ab}	63.6^{a}	60.5^{abc}	57.5^{c}	1.61
Propionato	23.2^{b}	24.2^{ab}	23.2^{b}	26.0^{ab}	23.7^{b}	22.4^{b}	24.2^{ab}	28.0^{a}	1.93
Butirato	9.6	9.3	9.1	8.9	9.2	8.8	10.0	9.7	1.12
Ramificados	2.0^{a}	1.9^{ab}	2.4^{a}	1.5^{ab}	1.9^{ab}	1.7^{ab}	1.7^{ab}	1.2^{b}	0.35
Acetato:propionato	2.7^{a}	2.5^{ab}	2.6^{ab}	2.3^{b}	2.6^{ab}	2.8^{a}	2.5^{ab}	1.9^{c}	0.17

[1] EE = error estándar de la media.
[a, b, c] Medias con letras distintas en una misma fila indican diferencias significativas (P<0.05).

El CLO resultó en un aumento del 80% en la concentración media de N peptídico a lo largo de las 8 h del ciclo de alimentación, y en una disminución numérica en la concentración media de N AA respecto al CTR (Tabla 2). No se observaron diferencias en la concentración media de N amoniacal. Estos resultados sugieren que CLO inhibió el proceso de peptidolisis. La inhibición de la peptidolisis podría mejorar la eficacia de síntesis de proteína microbiana y/o incrementar del flujo de peptidos al duodeno, mejorando la utilización del N alimentario (Wallace *et al.*, 1988). No se observaron efectos en los otros tratamientos sobre las concentraciones medias de las fracciones nitrogenadas.

Tabla 2. Efecto de los aditivos sobre las concentraciones de las fracciones nitrogenadas (mg/100ml).

	Tratamientos								
	CTR	MON	FEN	CAD	TEA	DIL	GIN	CLO	EE[1]
N-Peptídico	3.8^{b}	4.2^{ab}	4.5^{ab}	6.1^{ab}	4.3^{ab}	5.0^{ab}	4.8^{ab}	6.9^{a}	1.48
N-AA	5.2	5.1	5.0	5.0	4.5	4.7	4.0	2.8	1.69
N-Amoniacal	7.5	9.5	8.7	7.4	8.0	8.5	7.1	6.4	1.96

[1] EE = Error estándar de la media.
[a, b, c] Medias con letras distintas en una misma fila indican diferencias significativas (P<0.05).

CONCLUSIONES

A las dosis utilizadas (7.5 mg/d) el aceite esencial de *Syzygium aromaticum* modificó el perfil de fermentación ruminal reduciendo la relación acetato:propionato e inhibiendo la peptidolisis resultando en una mejora de la eficiencia de utilización de los nutrientes.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Chaney A. L., y Marbach E. P., 1962. Clin. Chem. 8:130-132.
Cowan, M. M., 1999. Clin. Microbiol. Rev. 12:654-582.
Evans, J. D. y Martin S. A., 2000. Curr. Microbiol., 41: 336-340.
Hoover, W.H. Crooker, B.A. y Sniffen, C. J. 1976. J. Anim. Sci., 43: 528-534.
Hristov, A. N., McAllister, B. A., Van Herk ,F.H., Cheng, K.J., Newbold, C. J. y Cheeke, P. R., 1999. J. Anim. Sci. 77: 2554-2563.
Jouany J. P., 1982. Sci. Aliments 2:131-144.
Statistical Analysis System. 1996, SAS Institute, Cary, NC:
Van Nevel C. J. y Demeyer D. I. , 1988. In : Hobson P.N. (Ed). The Rumen Microbial Ecosystem, Elsevier, Amsterdam, pp. 387-443.
Wallace R. J. y Cotta M.A., 1988. In : Hobson P.N. (Ed). The Rumen Microbial Ecosystem, Elsevier, Amsterdam, pp. 217-249.
Winter, K. A., Johnson, R. R. y Dehority, B. A. 1964. J. Anim. Sci. 97:793-797.