EFECTO DE LA ADICIÓN DE FUMARATO Y ASPARTATO SOBRE LA FERMENTACIÓN RUMINAL *IN VITRO* DE GRANOS DE CEREALES

M.J. Ranilla y M.D. Carro

Departamento de Producción Animal I, Universidad de León, 24071 LEON

INTRODUCCIÓN

Los ácidos orgánicos se utilizan frecuentemente como aditivos en la alimentación de los animales monogástricos, pero su uso en los animales rumiantes es limitado. En el rumen, los hidratos de carbono de la ración se degradan hasta convertirse en piruvato, que es metabolizado por los microorganismos ruminales para producir ácidos grasos volátiles. Algunos ácidos orgánicos (fumárico, málico, aspártico) son intermediarios metabólicos en la transformación de piruvato a propiónico. El ácido propiónico es absorbido en el rumen y en su mayor parte transportado al hígado, donde se convierte en glucosa y constituye así una fuente energética para el animal hospedador.

Algunos estudios recientes muestran que la incorporación de ácidos orgánicos en las raciones para rumiantes con un alto contenido en concentrados puede tener un efecto beneficioso sobre la fermentación, aunque la respuesta parece depender del tipo de cereal incluido en el concentrado (Carro y Ranilla, 2003). El objetivo de este trabajo fue estudiar el efecto de la adición de aspartato y fumarato sobre la fermentación ruminal *in vitro* de dos cereales: maíz y cebada.

MATERIAL Y MÉTODOS

Para la realización del estudio se emplearon dos cereales: cebada y maíz, cuya composición química se recoge en la Tabla 1.

Tabla 1. Composición química (g/kg MS) de los cereales incubados

	Materia orgánica	Proteína bruta	Fibra neutro detergente	Fibra ácido detergente
Maíz	985	89.6	119	23.2
Cebada	974	116	176	42.5

El estudio se llevó a cabo en cultivos *in vitro* de microorganismos ruminales. Se incubaron 500 mg de cada cereal en botellas de 120 ml a las que se añadieron 50 ml de una mezcla de líquido ruminal y del medio de cultivo (1:4) descrito por Goering y Van Soest (1970), mantenida a 39ºC y en anaerobiosis. Como inóculo se utilizó líquido ruminal procedente de cuatro ovejas fistuladas en el rumen alimentadas con heno de buena calidad *ad libitum* y 300 g de concentrado al día.

Se utilizaron las sales de dos ácidos orgánicos: fumarato disódico y aspartato potásico (Sigma, Madrid, España), que se añadieron en una concentración 10 mM por botella. Para cada sustrato se incubaron tres botellas: una sin ácido orgánico (control, C) y otra con cada uno de los ácidos (fumarato, F; y aspartato, A). Se

Trabajo financiado por el Ministerio de Ciencia y Tecnología (AGL2001-0130) y por la Junta de Castilla y León (LE62/03). M.J. Ranilla disfruta de un contrato de investigación del Ministerio de Ciencia y Tecnología (Programa Ramón y Cajal).

incluyeron además dos botellas sin sustrato (blancos) para cada uno de los tratamientos (C, F y A), para corregir la producción de gas procedente de los sustratos endógenos y de las sales de los ácidos orgánicos añadidos. La incubación se repitió en cuatro días diferentes para obtener cuatro réplicas por tratamiento.

Las incubaciones duraron 17 h, tras las cuales se midió la producción de gas en todas las botellas, tomando una muestra en un tubo al vacío tipo Vacutainer. Las botellas se abrieron, se midió y registró su pH y se detuvo la fermentación mediante su introducción en un baño de hielo. El contenido de cada botella se filtró a través de crisoles provistos de una placa porosa, los cuales se secaron en estufa a 100ºC y se analizó el contenido en cenizas del residuo para estimar la desaparición de la materia orgánica de los cereales. Se recogió además una muestra del filtrado para determinar la concentración de ácidos grasos volátiles (AGV).

El efecto de la adición de los ácidos orgánicos sobre los distintos parámetros de fermentación ruminal de cada cereal se estudió mediante análisis de varianza.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Como puede observarse en la Tabla 2, la adición de fumarato y aspartato produjo un aumento significativo ($P<0,05$) del pH final de las incubaciones con ambos cereales con respecto al control, sin que existieran diferencias entre los dos aditivos. Es conocido que malato y fumarato estimulan la utilización de lactato por parte de *Selenomonas ruminantium* (Nisbet y Martin, 1990), previniendo el descenso del pH que se produce por el acúmulo de dicho ácido. En el presente experimento, este efecto sobre el pH podría ser atribuido a una estimulación en la captación y transformación del ácido láctico a propiónico por parte de la flora ruminal. En el caso del maíz, la producción de propiónico fue máxima ($P<0,05$) cuando se incubó con aspartato, si bien fue mayor ($P<0,05$) con fumarato que sin aditivo. El fumarato ocasionó también un aumento ($P<0,05$) de la producción de propiónico cuando se incubaron granos de cebada.

En cuanto a la producción de AGV totales y de ácido acético se refiere, la adición de fumarato produjo un aumento ($P<0,05$) con respecto al control cuando se incubó maíz, con valores aún más elevados ($P<0,05$) en presencia de aspartato. Estos resultados están en línea de los obtenidos por Callaway y Martin (1996) en incubaciones con maíz y ambos ácidos orgánicos. No hubo diferencias ($P>0,05$), sin embargo, cuando se utilizó la cebada como sustrato en la producción de AGV ni de acético.

La producción de metano se redujo ($P<0,05$) con respecto al control cuando se añadió fumarato a los botes en los que se incubó el maíz, aunque la mayor producción de metano ($P<0,05$) correspondió al tratamiento con aspartato. En el caso de la cebada, la producción de metano no se vio afectada ($P>0,05$) por la adición de los ácidos orgánicos. Se han observado resultados variables sobre la reducción en la producción de metano con diferentes cereales y ácidos orgánicos (Callaway y Martin, 1996; Carro y Ranilla, 2003), si bien se asume que este efecto sería más importante con raciones a base de forraje. Tampoco se observaron diferencias ($P>0,05$) en la desaparición de materia orgánica cuando la cebada se incubó en presencia de los aditivos, pero si aumentó ($P<0,05$) con respecto al control cuando el maíz se incubó con fumarato o aspartato.

Tabla 2. Efecto de la adición de fumarato y aspartato sobre distintos parámetros de fermentación tras la incubación *in vitro* de granos de maíz y cebada con líquido ruminal durante 17 horas (pH, producción total de ácidos grasos volátiles (AGV), de acético, propiónico y butírico, desaparición de materia orgánica (DMO) y producción de metano).

MAÍZ	C	F	A	e.e.d.[1]
pH	6.27[b]	6.39[a]	6.38[a]	0.021
AGV (µmol)	3022[c]	3517[b]	3711[a]	55.5
acético (µmol)	1600[c]	1794[b]	1856[a]	64.6
propiónico (µmol)	975[c]	1258[b]	1464[a]	68.6
butírico (µmol)	386	396	459	29.8
DMO (%)	69.0[b]	72.1[a]	72.6[a]	1.10
metano (µmol)	644[b]	597[c]	675[a]	20.8
CEBADA	C	F	A	e.e.d.
pH	6.37[b]	6.48[a]	6.46[a]	0.027
AGV (µmol)	3090	3502	3099	262.4
acético	1655	1751	1562	154.2
propiónico	940[b]	1282[a]	1111[ab]	74.0
butírico	405	392	356	33.3
DMO (%)	68.6	67.8	69.6	3.25
metano (µmol)	673	648	685	23.9

[a, b, c] dentro de cada cereal, los valores con diferente superíndice difieren (P<0,05)
[1]e.e.d. : error estándar de la diferencia

Los resultados obtenidos indican un efecto beneficioso de los ácidos fumárico y aspártico sobre la fermentación ruminal *in vitro* de granos de cereales, aunque la magnitud de este efecto fue mayor con el maíz que con la cebada.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Callaway, T.R. and Martin, S.A. 1996. Effects of organic acid and monensin treatment on in vitro mixed ruminal microorganism fermentation of cracked corn. *Journal of Animal Science*, 74, 1982-1989.

Carro, M.D. and Ranilla, M.J.2003. Effect of the addition of malate on *in vitro* rumen fermentation of cereal grains. *British Journal of Nutrition*, 89: 181-188.

Goering, M.K. and Van Soest, P.J. 1970. *Forage fiber analysis (apparatus, reagents, procedures and some applications)*. Agricultural Handbook, nº 379. Agricultural Research Services, USDA. Washington DC.

Nisbet, D.J. and Martin S.A. 1990. Effect of dicarboxylic acids and Aspergillus oryzae fermentation extract on lactate uptake by the ruminal bacterium Selenomonas ruminantium. *Applied and Environmental Microbiology*, 26, 133-136.