EFECTOS DEL ACEITE DE AJO Y CUATRO DE SUS CONSTITUYENTES SOBRE LA FERMENTACIÓN MICROBIANA RUMINAL

M. Busquet[1], S. Calsamiglia[1], A. Ferret[1], M. D. Carro[2] y C. Kamel[3]

[1]Dept. de Ciència Animal i dels Aliments, Universitat Autònoma de Barcelona,08193-Bellaterra. [2]Dpto. de Producción Animal I, Universidad de León, 24071 León.
[3]Axiss France, S.A., Bellegarde-sur-Valserine, France.

INTRODUCCIÓN

Los aditivos alimentarios antibióticos, como modificadores de la fermentación ruminal, se han utilizado en la producción de carne de bovino en la Unión Europea durante más de 20 años debido, principalmente, a sus efectos en la eficiencia de la producción de los animales, así como en la prevención de patologías digestivas. Los beneficios del uso de estos aditivos contrastan con la creciente preocupación sobre el efecto potencial en la salud humana del uso indiscriminado de antibióticos en la alimentación animal, lo que ha llevado finalmente a la Comisión de la Unión Europea a dictar su retirada definitiva del mercado en enero de 2006 (Reglamento CE nº 1831/2003). En este contexto se hace necesario estimular la investigación cuyo objetivo sea desarrollar productos alternativos en la producción de carne bovina, y que se puedan aplicar al vacuno lechero, para mejorar el rendimiento de los animales y reducir la emisión de sustancias contaminantes al medio, todo ello con la total confianza de los consumidores.

En estudios previos *in vitro* en nuestro laboratorio, el aceite de ajo disminuyó la proporción de acetato, e incrementó las proporciones de propionato y butirato, y la concentración de N aminoacídico (Busquet et al., 2004). Estos resultados sugirieron que el aceite de ajo podía inhibir la producción de metano y tenía el potencial de disminuir las pérdidas en energía bruta de la dieta durante la fermentación microbiana ruminal, de manera parcedia a los aditivos antibióticos. El aceite de ajo consiste en una mezcla compleja de mono-, di- y tri- sulfuros de alilo, junto con una baja proporción de alicina, lo que dificulta la identificación de su mecanismo de acción, pero también su estandarización como producto comercial y los métodos de detección en los productos derivados de los animales (trazabilidad).

El objetivo de este experimento fue determinar si alguno de los componentes principales del aceite de ajo podía ser el responsable de los efectos observados en el aceite (o si por el contrario los efectos eran fruto de interacciones sinérgicas), así como confirmar la capacidad antimetanogéncia del aceite de ajo.

MATERIALES Y MÉTODOS

En un estudio previo en nuestro laboratorio (datos no mostrados) en el que se evaluaron los efectos de varios constituyentes del ajo (disulfuro de alilo, sulfuro de alilo, alicina y mercaptano de alilo) sobre la fermentación microbiana ruminal en cultivos in vitro de 24 h, se observó que el disulfuro de alilo y el mercaptano de alilo presentaron efectos parecidos a los observados en el aceite de ajo, por lo que estos fueron los compuestos escogidos para ser evaluados de nuevo en el presente estudio. El objetivo del presente estudio se dividió en dos experimentos. El primer experimento consistió en un estudio de larga duración (3 períodos replicados de 8 d, con 5 d de adaptación y 3 d de muestreo) en el que se analizaron los efectos del aceite de ajo (GAR; 300 mg/L), el disulfuro de alilo (DAD; 30 y 300 mg/L) y el mercaptano de alilo (ALM; 30 y 300 mg/L) sobre la fermentación microbiana ruminal en un sistema in vitro de cultivos continuos (Hoover y col., 1976). Durante los días de muestreo, los efluyentes de 24 horas se mantuvieron a 4ºC para detener el

crecimiento microbiano. El efluyente líquido y sólido de los tres días de muestreo se mezcló, homogeneizó y liofilizó para su posterior análisis (MS, cenizas, FND, FAD y bases púricas). Se tomaron submuestras sin liofilizar para el análisis de N total, N amoniacal y AGV. Con los mismos aditivos del segundo experimento (a una dosis de 300 mg/L) y la monensina (12,5 mg/L) como control positivo, se realizó un segundo estudio basado en una prueba de gas in vitro (17 h), para confirmar la hipotésis de la capacidad de estos compuestos para disminuir la producción de metano. A las 17 h de fermentación, se midió la producción de gas total y el pH y se recogieron muestras para determinar la producción de metano y las concentraciones de AGV y N amoniacal.

En todos los experimentos realizados se utilizó una misma dieta 50:50 forraje:concentrado (17,7% PB; 30,7% FND). El estudio 1 se realizó con líquido ruminal de vacas canuladas en lactación, mientras que en el experimento 2 el líquido de cultivo fue obtenido de ovejas canuladas. Los resultados fueron analizados utilizando el programa PROC MIXED del paquete estadístico SAS (SAS, 1996). La diferencias en la comparación de medias entre el control y los tratamientos se declaró a $P < 0,05$ mediante el test de Dunnet.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Sistema de cultivos continuos (estudio 1): Durante los días de muestreo, la concentración de AGV totales y las digestibilidades de la MS, MO, FND y FAD fueron similares en todos los tratamientos, a excepción del ALM300, que redujo la concentración de AGV comparado con el control, aunque no afectó la digestibilidad de la MS, MO o la fibra (Tabla 1). Respecto a las proporciones individuales de AGV, los tres aditivos mostraron los efectos esperados (aumento de las proporciones de propionato y butirato, y disminución de la proporción de acetato; Tabla 1), parecidos a los observados para los inhibidores de la producción de metano, lo que sugiere que los constituyentes del ajo también podrían tener capacidad antimetanogénica. Sin embargo, el aceite de ajo mostró los efectos más marcados, lo que sugirió la existencia de posibles interacciones sinérgicas entre sus constituyentes, por lo que el aceite de ajo seguiría siendo el producto de elección. La existencia de interacciones sinérgicas entre los constituyentes del aceite de ajo ya había sido sugerida en otros estudios en los que se evaluó la capacidad antimicrobiana del ajo y sus derivados (Reuter y col., 1996).

Prueba de gas in vitro (estudio 2): En general, los resultados de este segundo estudio fueron similares a los ya observados en el estudio en los cultivos continuos (Tabla 2). Hubieron pequeñas variaciones en las proporciones de los AGV individuales en el caso del disulfuro y el mercaptano de alilo, aunque siempre en la misma dirección. El aceite de ajo y el disulfuro de alilo produjeron una fuerte inhibición de la producción de metano (73,3 y 68,3%, respectivamente), superior a la que se observó para la monensina (47,7%), lo cual volvió a sugerir que, a diferencia de la monensina, su principal mecanismo de acción se centraba sobre la inhibición de la metanogénesis. El mercaptano de alilo también disminuyó la producción de metano, aunque fue en un menor grado (19,3%). Por otro lado, el aceite de ajo y el disulfuro de alilo también disminuyeron la ratio metano:AGV, lo que sugiere el potencial de estos compuestos para modificar la fermentación microbiana ruminal incrementando la cantidad de energía obtenida por unidad de substrato fermentado.

En conclusión, el efecto inhibidor del aceite de ajo, y algunos de sus constituyentes, sobre la producción de metano sugiere la capacidad de este aditivo para aumentar la eficiencia de la fermentación microbiana ruminal disminuyendo las

pérdidas en energía bruta de la dieta. Posteriores investigaciones deberán permitir confirmar estos resultados in vivo.

Tabla 1. Efectos del aceite de ajo, el disulfuro de alilo y el mercaptano de alilo sobre la fermentación microbiana ruminal en un sistema de cultivos continuos.

	Tratamientos[1]						
	CTR	GAR300	DAD30	DAD300	ALM30	ALM300	EEM[2]
Digestibilidad verdadera							
MS,%	59,8	55,3	58,9	55,1	56,7	56,0	2,57
MO, %	55,6	51,4	55,6	51,9	52,8	52,5	2,17
Digestibilidad fibra							
FND, %	36,7	33,5	35,7	34,9	35,8	37,4	1,83
FAD, %	36,0	29,6†	32,9	30,9	32,7	33,0	1,82
AGV totales, m*M*	110,4	100,9	106,2	100,7	104,2	96,3*	3,82
Individuales, mol/100 mol							
Acetato	62,7	46,1*	55,0*	49,2*	57,5*	48,5*	1,24
Propionato	20,5	32,0*	23,1	23,9	23,9	26,0*	1,33
Butirato	11,6	15,6*	14,7†	19,9*	11,6	18,1*	0,91
AGVR[3]	2,9	1,5†	4,2	1,9	3,9	2,3	0,40
C2:C3[4]	3,2	1,4*	2,4*	2,0*	2,5*	1,9*	0,18

[1] Tratamientos: CTR = control, GAR300 = 312 mg/L, *Allium sativa*, DAD300 = 312 mg/L, disulfuro de alilo, ALM300 = 312 mg/L, mercaptano de alilo; [2] EEM =error estándar de la media;
[3] Relación acetato:propionato; *Medias en una misma fila difieren del control ($P < 0,05$); †Medias en una misma fila difieren del control ($P < 0,08$).

Tabla 2. Efectos del aceite de ajo, el disulfuro de alilo y el mercaptano de alilo sobre la fermentación microbiana ruminal en cultivos in vitro de 17 h.

	Tratamientos[1]					
	CTR	GAR300	DAD300	ALM300	MON	EEM[2]
pH	6,6	6,7	6,7	6,6	6,6	0,01
Desaparición aparente MS (%)	61,0	50,7*	51,2*	60,4	53,9*	1,11
Gas (µmol)	4674,8	3756,9*	3359,7*	4388,2	4009,6*	123,34
CH_4 (µmol)	417,3	110,1*	131,3*	335,9*	241,7*	21,56
AGV totales, m*M*	49,3	39,7*	38,8*	45,4*	45,7*	1,17
Individuales, mol/100 mol						
Acetato	61,2	54,3*	53,9*	58,3*	56,4*	0,53
Propionato	22,6	25,8*	28,3*	22,8	34,2*	0,78
Butirato	12,5	16,5*	14,0	15,0*	6,6*	0,60
C2:C3	2,7	2,1*	1,9*	2,5*	1,6*	0,07
CH_4 (µmol):VFA (µmol)	0,20	0,05*	0,07*	0,15	0,10*	0,02
N-NH_3, mg/100 ml	16,7	16,6	19,0*	17,2	14,4*	1,10

[1] Tratamientos: CTR = control, GAR300 = 312 mg/L, *Allium sativa*, DAD300 = 312 mg/L, disulfuro de alilo, ALM300 = 312 mg/L, mercaptano de alilo, MON = 12,5 mg/L, monensina; [2] EEM =error estándar de la media; *Medias en una misma fila difieren del control ($P < 0,05$).

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Busquet, M., S. Calsamiglia, A. Ferret, y C. Kamel. 2004. J. Dairy Sci. Vol. 87, Supplement 1:213 (201).

Hoover, W. H., B. A. Crooker, y C. J. Sniffen. 1976. J. Anim. Sci. 43:528-534.

Reuter, H. D., J. P. Koch, y L. Lawson. 1996. Págs 135-212 en Garlic. The Science and Therapeutic Application of *Allium sativum* L. and Related Species. H. P. Koch and L. D. Lawson, ed. Williams & Wilkins, Baltimore, MD.