EFECTO DE LA INCLUSION DE COMPUESTOS ORGANOSULFURADOS EN LA DIETA SOBRE LA BIOHIDROGENACION RUMINAL DE ACIDOS GRASOS EN FERMENTADORES DE FLUJO CONTINUO

*E. Ramos-Morales, G. Martínez, L. Abecia, A.I. Martin-García, D.R. Yáñez-Ruiz, E. Molina-Alcaide
Estación Experimental del Zaidín, CSIC, Profesor Albareda 1, 18008, Granada, Spain
*eva.ramos@eez.csic.es

INTRODUCCIÓN

Los productos derivados de los rumiantes se caracterizan por un elevado contenido en ácidos grasos saturados, pero también son la fuente principal de ácido linoleico conjugado (*cis*-9, *trans*-11 CLA) y ácido vaccénico (VA; *trans*-11 18:1), asociados con efectos beneficiosos para la salud humana. Estos ácidos grasos se producen por la biohidrogenación parcial de ácidos grasos insaturados, particularmente ácido linoleico (LA; cis-9, cis-12 18:2), que llevan a cabo ciertos microorganismos del rumen. Actualmente, se están desarrollando estrategias que permitan modificar el perfil lipídico de los productos derivados de los rumiantes, aumentando su contenido en *cis*-9, *trans*-11 CLA y VA en el rumen. El uso de compuestos derivados del ajo ha despertado un gran interés como alternativa al uso de antibióticos para la manipulación de la fermentación ruminal. Principalmente, y dado el creciente interés en la reducción de las emisiones entéricas de metano, se ha evaluado el potencial de estos compuestos como antimetanogénicos (Benchaar y Greathead, 2011). Sin embargo, existen muy pocos trabajos acerca del efecto de la adición de aceite de ajo a la dieta sobre la biohidrogenación ruminal (Laverroux et al., 2011; Zhu et al., 2012) y ninguno relativo al uso de compuestos organosulfurados concretos. El hidrógeno molecular conecta muchos procesos metabólicos en el rumen, de manera que los compuestos derivados del ajo, con actividad antimetanogénica, podrían afectar no solo al metabolismo de los ácidos grasos volátiles, sino también al proceso de biohidrogenación ruminal. El objetivo de este trabajo es estudiar el efecto de dialil disulfuro (DDS) y propil propano tiosulfinato (PTS), adicionados en las dosis que mostraron un potencial antimetanogénico en incubaciones *in vitro* durante 24 h (Martínez et al., 2011), sobre la biohidrogenación ruminal tras un periodo de incubación *in vitro* más prolongado (12 días).

MATERIAL Y MÉTODOS

Se utilizaron 6 fermentadores de flujo continuo simple (1 l) en dos periodos replicados de 12 días cada uno. El inóculo ruminal (700 ml/fermentador) se obtuvo de 8 cabras de raza murciano-granadina, canuladas en rumen y alimentadas a base de heno de alfalfa y concentrado (1:1). Para cada periodo, tres de los fermentadores se inocularon con una mezcla de contenido ruminal procedente de tres animales distintos seleccionados al azar. Los fermentadores recibían la misma dieta (16 gramos/ fermentador/día) que los animales donadores del inóculo en dos tomas, a las 9:00 y a las 14:00 h. Además, a dos fermentadores por periodo se les adicionó 80 µl/l o 200 µl/l al día de DDS y PTS, respectivamente. Al final de cada periodo, se extrajo contenido de los vasos de fermentación que se filtró a través de dos capas de gasa bajo un flujo de CO_2. Un ml de contenido del fermentador se añadió, en condiciones de anaerobiosis, a tubos que contenían 0.1 ml de 2 g de LA/l. Los tubos se incubaron a 39ºC durante 0, 1, 3, 6, 9 y 24 h, deteniéndose la reacción mediante calentamiento a 100ºC durante 10 minutos. Las muestras se conservaron a -20ºC hasta la extracción y metilación de ácidos grasos (Devillard et al., 2006), que se analizaron mediante cromatografía gaseosa (Shingfield et al., 2003). El análisis estadístico de los datos experimentales se realizó, para cada tiempo de incubación por independiente, mediante un modelo univariante GLM del programa SPSS 19.0, considerando la mezcla del contenido ruminal inoculado a los fermentadores como covariable. Las diferencias entre medias se establecieron utilizando el test DMS ($P < 0,05$).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

No se observaron cambios (P>0.05) en la tasa inicial del metabolismo del LA (Figura 1a) o en la acumulación de *cis-9, trans-11* CLA (Figura 1b) y de *trans-10, cis-12* CLA (Figura 1c) entre tratamientos. Las concentraciones de VA (Figura 1d) y de *trans*-10 18:1 (Figura 1e) aumentaron (P=0,028 a 9 h y P=0,011 a 3 h, respectivamente) cuando se incubó LA con contenido de fermentadores a los que se les adicionó DDS o PTS, en comparación con los no tratados. Sin embargo, no se observaron cambios (P>0,05) en la producción de ácido esteárico (SA; Figura 1f) como resultado de la adición de compuestos derivados del ajo. Aun cuando los incrementos en *trans*-10 18:1 se han relacionado con implicaciones para el metabolismo ruminal del hospedador y con la calidad nutricional de los productos de los rumiantes, en este estudio dichos incrementos no fueron desproporcionados y las concentraciones de VA fueron siempre mayores que las de *trans*-10 18:1 para los tratamientos DDS y PTS, en comparación con el control. Estos resultados muestran que la biohidrogenación del LA por microorganismos ruminales presentes en el contenido de fermentadores tras 12 días de tratamiento con PTS y DDS fue incompleta, resultando en un aumento de VA lo que podría promover un aumento de ácidos grasos saludables para el consumidor en productos derivados de los rumiantes. Se requieren estudios *in vivo* para confirmar el efecto de estos aditivos sobre la biohidrogenación ruminal.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

• Benchaar, C., Greathead, H. 2011. Anim. Feed Sci. Tecnol. 166-167: 338-355. • Devillard, E., F. M. McIntosh, C. J. Newbold, and R. J. Wallace. 2006. Br. J Nutr. 96:697-704. • Laverroux, S., Arturo-Shaan M., Doreau, M. 2011. Proceedings of the 8th International Symposium on the Nutrition of Hervibores. 279. • Martínez, G., Abecia, L., Martín-García, A. I., Ramos-Morales, E., Molina-Alcaide, E., Ranilla, M. J., Yáñez-Ruiz, D.R. 2011. Proceedings of the 8th International Symposium on the Nutrition of Hervibores. 488. • Shingfield, K. J., S. Ahvenjarvi, V. Toivonen, A. Arola, K. V. V. Nurmela, P. Huhtanen, and J. M. Griinari. 2003. Anim. Sci. 77:165–179. • Zhu, Z., Mao, S., Zhu, W. 2012. Asian-Aust. J. Anim. Sci. 25: 962-970.

Agradecimientos: Este trabajo ha sido financiado por la Junta de Andalucía (Proyecto de Excelencia P07-RNM-02746) y el Ministerio de Economía y Competitividad (Proyecto AGL2008-04707-C02-01).

EFFECT OF ADDING ORGANOSUPLHUR COMPOUNDS TO THE DIET ON RUMINAL FATTY ACID BIOHYDROGENTION IN CONTINUOUS CULTURE FERMENTERS

ABSTRACT: Garlic essential oil contains a variety of fat soluble organosulphur compounds with antimicrobial activity. In the last decade an increasing research interest has focused on using garlic oil and its constituents as modulators of ruminal processes. The present study was undertaken to evaluate the potential of diallyl disulfide (DDS) and propyl propane thiosulfinate (PTS) to modulate rumen biohydrogenation *in vitro*. Six single-flow continuous-culture fermenters, inoculated with rumen fluid from 8 goats, were used in two replicated periods of 12 days each. Two fermenters per period received either a control diet or the same diet with 80 µl/l of DDS or 200 µl/l of PTS daily. On day 12 of the experiment, one ml of fermenter's content was incubated *in vitro* with 0.1 ml of 2 g LA/l for 0, 1, 3, 6, 9 and 24 h. There were no changes (P>0.05) in either the initial rate of metabolism of LA (Figure 1a) or the accumulation of *cis*-9, *trans*-11 CLA (Figure 1b) and *trans*-10, *cis*-12 CLA (Figure 1c) between treatments. Vaccenic acid and *trans-10* 18:1 accumulated to higher concentrations (P=0.028 at 9 h and P=0.011 at 3 h, respectively) when LA was incubated in rumen fluid from fermenters receiving DDS and PTS (Figure 1d and 1e). It was concluded that adding DDS and PTS to the diet of fermenters increased the accumulation of VA, with potential health benefits for ruminant products. *In vivo* studies are now required to confirm the potential of these additives.

Keywords: biohidrogenación, fermentadores, compuestos organosulfurados

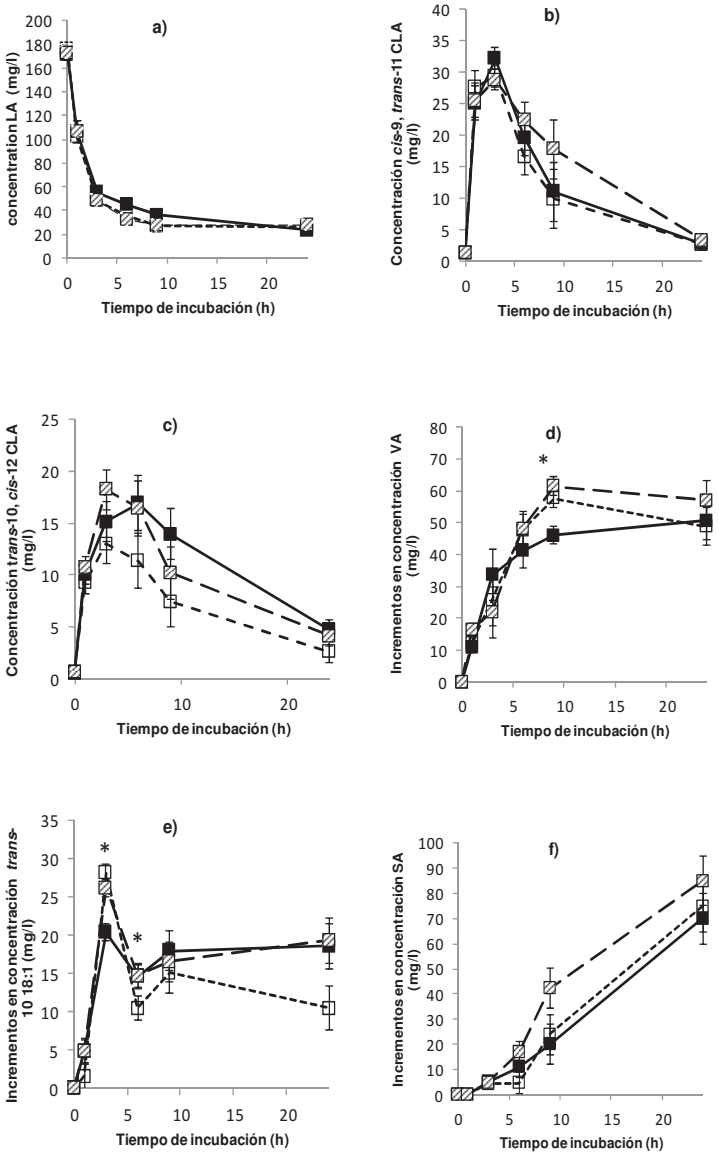


Figura 1. *Efecto de la adición de DDS y PTS a la dieta de fermentadores de flujo continuo sobre el metabolismo in vitro del LA (ácido linoleico); a) Metabolismo del LA*. b) acumulación de *cis*-9, *trans*-11 CLA.; c) acumulación de *trans*-10, *cis*-12 CLA.; d) Cambios en la concentración de ácido vaccénico (VA); e) Cambios en la concentración de *trans*-10 18:1.; f) Cambios en la formación de esteárico (SA). *Los cuadrados negros, blancos y estriados, corresponden a las incubaciones con contenido de los fermentadores que recibieron la dieta control (sin aditivo) o con DDS y PTS, respectivamente.*