EFECTO DE LA INCLUSIÓN DE ACEITES Y OLEÍNAS VEGETALES SOBRE LA PRODUCCIÓN DE METANO Y LA FERMENTACION RUMINAL *IN VITRO*

Tejido, M.L., Bodas, R., Blanco, C., Llorente*, P., Giráldez, F.J.
Instituto de Ganadería de Montaña (CSIC-Universidad de León). Finca Marzanas. E-24346 Grulleros, León. *Pania Animal, S.L. 24219 Vilafalé, León. Correo e.:mltejm@unileon.es.

INTRODUCCIÓN

Diversos estudios han demostrado que la adición de aceites vegetales o ácidos grasos de cadena media o larga disminuyen la producción de metano en el rumen, aumentando de esta forma la eficiencia de utilización de la energía ingerida y disminuyendo las emisiones de este gas y su efecto contaminante (Martin et al., 2008; Soliva et al., 2003). La inclusión de aceites vegetales o ácidos grasos específicos en la dieta es costosa y sería muy útil disponer de fuentes lipídicas alternativas económicamente más asequibles. A este respecto cabe mencionar que en el mercado existen una serie de subproductos, ricos en ácidos grasos libres y en triglicéridos, denominados oleínas. Éstas se generan durante el proceso de refinado de los aceites, y presentan un coste inferior al de los aceites correspondientes. Si bien las oleínas se utilizan en alimentación animal, son escasos los trabajos que han valorado su efecto sobre la producción de metano en el rumen (Blanco et al., 2012) o que han comparado su eficacia en relación con los aceites de los que proceden.
El objetivo de este trabajo fue comparar el efecto de distintas dosis de aceite de girasol y de aceite de oliva y de sus correspondientes oleínas, sobre la fermentación ruminal y la producción de metano in vitro.

MATERIAL Y MÉTODOS

El estudio se realizó utilizando un sistema in vitro de cultivos no renovados de microorganismos ruminales. Como sustrato de fermentación se utilizó una ración compuesta por 26,3% de paja de trigo, 17,0% de heno de veza y 56,7% de pienso concentrado. Su composición química (expresada en relación con la materia fresca) fue la siguiente: 90,3% de materia seca, 7,0% de cenizas, 12,0% de proteína bruta 45,1% de fibra neutro detergente y 26,4% de fibra ácido detergente. Esta ración (dieta basal) fue molida a 1 mm y mezclada con diferentes dosis (2, 4 y 6%) del suplemento lipídico correspondiente: mezcla 4:1 de ácidos láurico y mirístico (LM), aceite de girasol (AG), oleína de girasol (OG), aceite de oliva (AO) y oleína de oliva (OO). La mezcla de ácido laurico: mirístico se incluyó como control positivo debido a su conocido efecto antimetanogénico (Soliva et al., 2003). Se incluyó entre los tratamientos un tratamiento control, constituido por la dieta basal sin suplemento lipídico.
Para hacer las incubaciones se utilizaron viales de 120 ml a los que se añadió 400 mg del sustrato correspondiente y 40 ml de una mezcla (1:4 v/v) de líquido ruminal y del medio de cultivo descrito por Goering y Van Soest (1970), pero sin $CaCl_2$ (de acuerdo con lo sugerido por Soliva et al., 2003). Como inóculo se utilizó líquido ruminal procedente de 2 vacas fistuladas en el rumen y que recibían la misma ración que se utilizó como sustrato en los viales. Tras 24 horas de incubación en condiciones de anaerobiosis a 39 ªC se midió el volumen de gas producido y se tomaron muestras del gas para analizar su contenido en metano. Posteriormente los viales fueron abiertos y se tomaron muestras para la determinación de ácidos grasos volátiles (AGV). Las incubaciones se realizaron en dos tandas, en días no consecutivos, y en cada tanda se usaron dos inóculos diferentes (uno por animal), incubándose 2 réplicas por sustrato.
Las réplicas para cada sustrato, inóculo y día fueron promediadas. Para estudiar el efecto de la dosis (0, 2, 4, 6%), los datos fueron sometidos a un ANOVA para cada suplemento (LM, AG, OG, AO, OO), con la dosis como fuente de variación y realizando un contraste ortogonal para evaluar el efecto lineal. Para estudiar la comparación entre oleínas y aceites, se llevó a cabo un ANOVA para cada dosis (2, 4 y 6%), con el tipo de suplemento (AG, OG, AO, OO) como fuente de variación, realizando los siguientes contrates ortogonales: aceites frente a oleínas, aceite de oliva frente a oleína de oliva, aceite de girasol frente a oleína de girasol. En todos los casos se utilizó el procedimiento GLM del paquete estadístico SAS (SAS Inst. Inc., USA).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Efecto de la dosis

Tal y como se muestra en la Tabla 1, la adición de todos los suplementos lipídicos estudiados (LM, AO, OO, AG y OG) redujo tanto la producción de gas (P<0,001) como de metano por g de MS incubada (P<0,05). La concentración de AGV, expresada en relación con la MS incubada, mostró una evolución similar a la señalada para las producciones de gas y de metano, si bien en el caso del AGV las diferencias observadas sólo mostraron una tendencia a la significación. Cabe destacar que esta disminución en la producción de AGV totales estuvo asociada a un cambio en su perfil, de manera que a medida que aumentó la dosis de suplemento lipídico se produjo una disminución significativa (P<0.001) en la relación entre los ácidos acético y propiónico. Estos resultados concuerdan con trabajos previos en los que tanto el empleo de diversos tipos de aceites (Soliva et al., 2003; Martin et al., 2008) como de oleínas (Blanco et al., 2012) afecta a la fermentación ruminal y reduce la producción de metano.

Contraste aceites frente a oleínas

Respecto a la producción de gas, no se observaron diferencias entre oleínas y aceites a la dosis de inclusión más elevada (6%). El aceite de oliva mostró un mayor efecto inhibidor de la producción de gas que su oleína a dosis del 2% (P<0,01) y 4% (P<0,05). En el caso del AG y de la OG no se observaron diferencias en ninguna de las dosis evaluadas.

En relación con el efecto antimetanogénico el aceite de oliva tendió a ser más eficaz que su oleína al 4% (P>0,10), mientras que la oleína de girasol ejerció una mayor inhibición sobre la producción de metano que el aceite correspondiente (P<0,05). Los efectos sobre la producción de AGV no fueron diferentes entre aceites y oleínas a dosis del 4 y 6% (P>0,10). Sin embargo, el aceite de oliva mostró un efecto inhibitorio más potente que su correspondiente oleína a dosis del 2% (P<0,01). No obstante, la diferencia de efecto sobre la relación acético/propiónico resultó inapreciable a dosis bajas, mientras que al 6% la oleína de girasol dio lugar a menores valores de este parámetro que su aceite.

La utilización de dosis entre el 2 y el 6% de oleína o aceite de oliva o girasol inhiben la fermentación ruminal y reducen la producción de metano de forma lineal, aumentando la relación acético/propiónico. Aunque depende de la dosis utilizada, en general la oleína de girasol tiende a mostrar un efecto más marcado que su correspondiente aceite, mientras que en el caso de la oliva los efectos tienden a ser más notable en el caso del aceite que de la oleína.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Blanco, C., Bodas, R., Prieto, N., Morán, L., Andrés, S., López, S. & Giráldez, F.J. 2012. Anim. Feed Sci. Technol. 176: 40-46. • Goering, M.K. & Van Soest, P.J. 1970. Agricultural Handbook No.379, USDA, Washington DC. • Martin, C., Rouel, J., Jouany, P., Doreau, M. & Chilliard, Y., 2008. J. Anim. Sci. 86: 2642–2650. • Soliva, C.R., Hindrichsen, I.K., Meile, L., Kreuzer, M. & Machmüller, A. 2003. Lett. Appl. Microbiol. 37: 35–39.

Agradecimientos: Este trabajo ha sido financiado por un contrato de I+D asociado al proyecto CDTI IDI-20111238. M.L. Tejido disfruta de un contrato JAE-Doc del programa 'Junta para la Ampliación de Estudios' (CSIC-Fondo Social Europeo).

EFFECT OF VEGETABLE OILS AND SOAPSTOCKS ON *IN VITRO* RUMINAL FERMENTATION AND METHANE PRODUCTION

ABSTRACT: The in vitro gas production technique was used to test the effects of different doses (0, 2, 4 and 6%) of vegetable oils and soapstocks (sunflower oil –AG-, sunflower soapstock –OG-, olive oil –AO-, olive soapstock –OO-) added to the substrate for incubations (Total mixed rations, TMR: (26.3% wheat straw, 17.0% vetch hay and 56.7% concentrate) on ruminal fermentation and methane production. Ruminal fluid from cows fed on the TMR was used as inoculum. A mixture of lauric and miristic acids (4:1) at the same doses was used as positive control. Both vegetable oils and soapstocks linearly reduced gas (P<0.001) and

methane production (P<0.05), raising acetate to propionate ratio (P<0.01). All tested supplements but AG decreased volatile fatty acid production (P<0.05). Although the differences between soapstocks and oils depend on the doses administered, generally speaking, the effects of AO were more pronounced than those of OO, and OG had more marked antimethanogenic effects than AG at 6% dose.
Keywords: rumen, vegetable oil, soapstocks, methane.

***Tabla 1**. Efecto de la adición de aceites u oleínas a distintas dosis sobre la producción de gas, metano, ácidos grasos volátiles y la relación acético/propiónico*

	Dosis (%)					
	0	**2**	**4**	**6**	**d.e.r.**	**P-lineal**
Producción de gas (ml/g MS incubada)						
Mezcla láurico-mirístico (LM)	164	154	152	141	3,9	***
Aceite de oliva (AO)	164	160	154	153	2,5	***
Oleína de oliva (OO)	164	169	160	155	2,7	***
Aceite de girasol (AG)	164	159	158	150	2,9	***
Oleína de girasol (OG)	164	162	157	151	2,8	***
d.e.r.		3,8	3,0	4,9		
P-aceites vs oleínas		*	n.s.	n.s.		
P-AO vs OO		**	*	n.s.		
P-AG vs OG		n.s.	n.s.	n.s.		
Producción de metano (ml/g MS incubada)						
Mezcla láurico-mirístico (LM)	35,4	33,9	31,7	27,9	0,77	***
Aceite de oliva (AO)	35,4	32,3	30,4	30,7	1,46	**
Oleína de oliva (OO)	35,4	34,6	32,5	30,4	1,53	**
Aceite de girasol (AG)	35,4	33,6	32,0	31,0	1,52	**
Oleína de girasol (OG)	35,4	32,1	31,4	28,2	1,66	***
d.e.r.		1,98	1,38	1,64		
P-aceites vs oleínas		n.s.	n.s.	t		
P-AO vs OO		n.s.	t	n.s.		
P-AG vs OG		n.s.	n.s.	*		
AGV (mmol/g MS incubada)						
Mezcla láurico-mirístico (LM)	3,72	3,65	3,58	3,44	0,125	**
Aceite de oliva (AO)	3,72	3,54	3,47	3,49	0,118	*
Oleína de oliva (OO)	3,72	3,77	3,59	3,41	0,162	*
Aceite de girasol (AG)	3,72	3,65	3,59	3,49	0,153	t
Oleína de girasol (OG)	3,72	3,65	3,60	3,46	0,141	*
d.e.r.		0,107	0,159	0,140		
P-aceites vs oleínas		*	n.s.	n.s.		
P-AO vs OO		**	n.s.	n.s.		
P-AG vs OG		n.s.	n.s.	n.s.		
Acético/propionico (mol/mol)						
Mezcla láurico-mirístico (LM)	4,50	4,55	3,87	3,64	0,228	***
Aceite de oliva (AO)	4,50	4,11	4,08	4,13	0,185	*
Oleína de oliva (OO)	4,50	4,33	4,24	3,94	0,124	***
Aceite de girasol (AG)	4,50	4,38	4,28	4,21	0,044	***
Oleína de girasol (OG)	4,50	4,21	4,08	3,70	0,117	***
d.e.r.		0,153	0,209	0,202		
P-aceites vs oleínas		n.s.	n.s.	**		
P-AO vs OO		t	n.s.	n.s.		
P-AG vs OG		n.s.	n.s.	**		

d.e.r.=Desviación estándar residual. P=nivel de significación estadística: n.s.=P>0,10; t=P<0,10; *=P<0,05; **=P<0,01; ***=P<0,001.