

EFFECTO DEL AGUA ELECTROLIZADA SOBRE LA FERMENTACIÓN RUMINAL *IN VITRO* UTILIZANDO INÓCULO DE ANIMALES RECIBIENDO FORRAJE

Bodas, R.¹, Bartolomé, D.J.¹, Taberero de Paz, M.J.¹, Posado, R.¹, Tejido, M.L.², Martín-Diana, A.B.¹, Rodríguez, L.A.¹, Olmedo, S.¹, García, J.J.¹

¹Instituto Tecnológico Agrario - Subdirección de Investigación y Tecnología. Consejería de Agricultura y Ganadería. Junta de Castilla y León. Finca Zamadueñas. Ctra. Burgos, km 119. 47071 Valladolid (Spain). Correo e.: bodrodra@itacyl.es

²Instituto de Ganadería de Montaña (CSIC-ULE). Finca Marzanas. 24346 Grulleros, León

INTRODUCCIÓN

En los últimos años cada vez son más numerosos los trabajos en los que se valora la aplicación del agua electrolizada en el ámbito de la producción animal. Así, por ejemplo, Abol-Enein et al. (2009) utilizaron agua electrolizada para corregir la acidosis metabólica inducida a perros y ratas, observando una recuperación de los valores fisiológicos de bicarbonato y presión parcial de CO₂ en sangre. En este sentido, se ha señalado que un 3% de agua electrolizada en el agua de bebida puede ocasionar un incremento de los valores de pCO₂ y bicarbonato sanguíneo en ganado vacuno de leche (Bartolomé et al., 2011c).

Por otra parte, el agua electrolizada tiene demostradas propiedades desinfectantes (Kubota et al., 2009; Yahagi et al., 2008). Así, un 3% de agua electrolizada en el agua de bebida habitual de vacas en lactación redonda en una mayor calidad higiénico-sanitaria del mismo agua, disminuyendo considerablemente los recuentos de bacterias en los bebederos, pudiendo repercutir positivamente sobre la calidad microbiológica de la leche y la salud de la ubre (Bartolomé et al., 2011b), si bien el nivel óptimo de concentración puede variar en función de la calidad microbiológica del agua de partida.

Aunque se han realizado diferentes estudios sobre el uso del agua electrolizada, han sido pocos los enfocados a nivel nutricional y no se ha encontrado información referente al mecanismo que podría explicar los efectos observados sobre la productividad de los animales. Sin embargo, el interés por la aplicación de este tipo de agua ha llevado al desarrollo de dos patentes en relación con los efectos del agua electrolizada en rumiantes. Los efectos observados dependerán, lógicamente, del tipo de agua electrolizada utilizada. En este sentido, la electrolisis diafrágica da lugar al menos a dos tipos de agua electrolizada: ácida u oxidante (procedente del ánodo y rica en ácido hipocloroso) y otra básica o reducida (procedente del cátodo y rica en hidróxido sódico). El agua electrolizada ácida suele utilizarse diluida, con un pH cercano a la neutralidad, y ambos tipos de agua pueden combinarse para dar lugar a agua electrolizada neutra. Además de con el tipo de agua empleada, los efectos pueden variar en función de la dieta que consuman los animales.

El objetivo de este trabajo es estudiar los efectos del agua electrolizada (ácida y básica), sustituyendo un 25 y 50% del agua destilada del medio de cultivo, sobre la fermentación ruminal *in vitro* de animales alimentados a base de forraje.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se utilizó agua electrolizada básica (Catolyte, pH 11,5) y ácida diluida (Anolyte, pH 7,0) proporcionadas por el equipo de producción instalado en la granja de la Escuela de Capacitación Agraria de Palencia (Finca Viñalta, Junta de Castilla y León).

Como inóculo se utilizó líquido ruminal de 3 ovejas fistuladas en el rumen pertenecientes al rebaño del Instituto de Ganadería de Montaña (CSIC), que estaban recibiendo una ración a base de heno de alfalfa. Se incubaron dos sustratos: alfalfa y pienso concentrado (compuesto por 49% cebada, 21% maíz, 22% torta de soja, 5% paja de cebada, 3% suplemento mineral). La prueba de producción de gas (Theodorou et al., 1994) se llevó a cabo en viales de 120 ml a los cuales se añadieron 50 ml de líquido ruminal diluido (1:4) (Menke y Steingass, 1988).

Para evaluar el efecto del agua electrolizada, se sustituyó el agua destilada del medio (Menke y Steingass, 1988) por diferentes proporciones de agua electrolizada: Control (sólo agua destilada), AN25 (25% Anolyte), AN50 (50% Anolyte), CA25 (25% Catolyte), CA50 (50% Catolyte). Las incubaciones se llevaron a cabo en 3 días diferentes y cada día se incubaron 22 viales, correspondientes a 2 dietas × [2 tipos de agua electrolizada (Anolyte o Catolyte) × 2 dosis (25 y 50%) + 1 control (medio sin modificar)] × 2 réplicas + 4 blancos.

Una vez llenas, las botellas se introdujeron en un incubador durante 24 h, pasadas las cuales se midió la producción de gas (López et al., 2007) y se abrieron los viales para medir el pH y tomar muestras para la determinación de ácidos grasos volátiles (AGV, Ottenstein y Bartley, 1971).

Los datos obtenidos se sometieron a un análisis de varianza factorial, con el tipo de agua electrolizada y la ración incubada como fuentes de variación, considerando la tanda de incubación como factor bloque. Los datos se procesaron utilizando el modelo lineal general y las medias se compararon ($P < 0,05$) utilizando el test DMS del paquete estadístico SPSS (v 16.0, SPSS Inc., Chicago, Illinois, USA).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La Tabla 1 muestra los valores medios de producción de gas, pH, producción total de AGV y porcentaje de los principales AGV (acético, propiónico, butírico). Como puede apreciarse, la utilización de forraje como sustrato disminuyó ($P < 0,001$) la producción de gas y de AGV y la proporción de ácido butírico, mientras que aumentó la proporción de acético ($P < 0,001$). Por otra parte, la sustitución del agua destilada por Anolyte produjo una disminución significativa en la producción de gas ($P < 0,01$), mientras que el descenso provocado por Catolyte sólo es evidente cuando se emplea la dosis más elevada. El pH final tras 24 h de incubación disminuyó cuando se sustituyó un 50% del agua destilada del medio por Anolyte ($P < 0,01$); sin embargo, la producción de AGV no se vio modificada, mientras que la proporción de acético aumentó ($P < 0,05$) con el porcentaje de sustitución del 50%, independientemente del tipo de agua electrolizada añadida. Por su parte, la proporción de ácido butírico disminuyó en respuesta a la adición de dosis altas de cualquiera de los dos tipos de agua testada ($P < 0,05$).

El medio de cultivo está basado en la mezcla de sustancias buffer fuertes, de tal manera que modificar el pH es realmente complicado. La disminución observada en los valores de pH final debido al Anolyte, acompañados de un descenso en la producción de gas, estarían relacionados con la disminución en los valores de pH iniciales observados en el medio de cultivo previamente a la mezcla con el inóculo ruminal correspondiente (8,02, 7,84, 7,73, 8,10 y 8,26 para 0, AN25, AN50, CA25, CA50, respectivamente). Por otra parte, el elevado contenido en cloro de Anolyte (>300 ppm; <1 ppm en Catolyte), pudo ejercer un efecto bactericida (ampliamente demostrado en estudios relacionados con la limpieza y la desinfección: Bartolomé et al., 2011a; Kubota et al., 2009; Yahagi et al., 2008), que si bien se tradujo en una disminución en la producción de gas, no dio lugar a un descenso en los valores de producción total de AGV. Sin embargo, el cambio en las proporciones de ácido acético sugiere que el Anolyte sí podría ejercer un efecto inhibitorio selectivo sobre determinados microorganismos ruminales.

El empleo de dosis elevadas de agua electrolizada (básica o ligeramente ácida) afecta a la fermentación ruminal *in vitro* reduciendo la producción de gas y aumentando la proporción de ácido acético. Además, el agua electrolizada ligeramente ácida (Anolyte) tiende a reducir el pH del medio ruminal.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abol-Enein, H., Gheith, O.A., Barakat, N., Nour, E. & Sharaf, A.E. 2009. Ther. Apher. Dial., 13: 220-224. • Bartolomé, D., Posado, R., Rodríguez, L., Bueno, F., Olmedo, S., García, J.J. & Martín-Diana, A.B. 2011a. AIDA, XIV Jornadas sobre Producción Animal, Tomo I: 13-15. • Bartolomé, D., Posado, R., Rodríguez, L., Bueno, F., Olmedo, S., García, J.J. & Martín-Diana, A.B. 2011b. AIDA, XIV Jornadas sobre Producción Animal, Tomo I: 16-18. • Bartolomé, D., Posado, R., Olmedo, S., García, J.J. & Martín-Diana, A.B. 2011c. AIDA, XIV Jornadas sobre Producción Animal, Tomo I: 19-21. • Kubota, A., Nose, K., Yonekura, T., Kosumi, T., Yamauchi, K. & Oyanagi, H. 2009. Surg. Today, 39 (6): 514-517. • López, S., Dhanoa, M.S., Dijkstra, J., Bannink, A., Kebreab, E. & France, J. 2007. Anim. Feed Sci. Technol. 135: 139-156. • Menke, K.H. & Steingass, H., 1988. Anim. Res. Develop. 28: 7-55. • Ottenstein, D.M. & Bartley, D.A. 1971. Anal. Chem. 43, 952-955. • Theodorou, M.K., Williams, B.A., Dhanoa, M.S., McAllan, A.B. & France, J. 1994. Anim. Feed Sci. Technol. 48: 185-197. • Weatherburn, M.W. 1967. Anal. Chem. 39: 971-974. • Yahagi, N., Kono, M., Kitahara, M., Ohmura, A., Sumita, O., Hashimoto, T., Hori, K., Ning-Juan, C., Woodson, P., Kubota, S., Murakami, A. & Takamoto, S. 2008. Artif. Organs: 24: 984-987.

Agradecimientos: Proyecto financiado por el Instituto Tecnológico Agrario de Castilla y León (Consejería de Agricultura y Ganadería, Junta de Castilla y León) (Proyecto 2010-1284) y Fondos FEDER.

Tabla 1. Valores medios de producción de gas, pH, producción total de AGV y proporciones de los principales AGV.

	Gas producido (ml/g MS)	pH	AGV total (mmol/g MS)	Acético (%)	Propiónico (%)	Butírico (%)
Dosis y tipo de agua electrolizada						
0 (Control)	160 ^b	6,74 ^b	2,824	63,1 ^{ab}	22,5	11,4 ^{bc}
AN25	151 ^a	6,74 ^b	2,822	62,9 ^a	22,1	11,5 ^c
AN50	150 ^a	6,70 ^a	2,710	65,0 ^c	22,7	9,6 ^a
CA25	156 ^b	6,75 ^b	2,838	63,0 ^{ab}	23,1	11,0 ^{bc}
CA50	152 ^a	6,73 ^b	2,683	64,3 ^{bc}	22,7	10,5 ^{ab}
<i>eem</i>	1,7	0,007	0,0698	0,52	0,48	0,39
<i>P-agua</i>	***	***	n.s.	*	n.s.	*
Ración incubada						
Concentrado	190	6,64	3,259	57,3	22,8	17,3
Forraje	118	6,82	2,293	70,1	22,4	4,3
<i>eem</i>	1,1	0,004	0,0441	0,33	0,3	0,24
<i>P-ración</i>	***	***	***	***	n,s,	***
<i>P-agua*ración</i>	***	n,s,	n,s,	n,s,	n,s,	n,s,

eem: error estándar de la media,

P=nivel de significación: ns=*P*>0,10; *=*P*<0,05; ***=*P*<0,001,

a, b, c Superíndices distintos en la misma columna indican diferencias significativas (*P*<0,05),

EFFECT OF ELECTROLYZED WATER ON RUMINAL FERMENTATION *IN VITRO* USING INOCULUM FROM FORAGE-FED ANIMALS

ABSTRACT: The effects of alkaline (Catolyte, pH 11,5) and slightly acidic (Anolyte, pH 7,0) electrolyzed water substituting 25 or 50% of distilled water in the culture medium for in vitro gas production technique were evaluated when using inocula from fistulated ewes fed on alfalfa hay., Two diets (alfalfa and concentrate) were incubated., When alfalfa was used as substrate, gas and AGV production and butyrate proportion decreased (*P*<0.,001) and acetate proportion increased (*P*<0.,001). Anolyte at 25 or 50% rates and Catolyte at 50% rate decreased gas production., Anolyte at 50% rate also decreased final pH, Volatile fatty acids production was not affected, but acetate proportion increased and butyrate proportion decreased when either Anolyte or Catolyte were used at 50% rate (*P*<0.,05)., Using high doses of electrolyzed water affects ruminal fermentation in vitro by reducing gas production and increasing acetate proportion. Anolyte tends to reduce ruminal pH.

Keywords: electrolyzed water, rumen, sheep, forage, in vitro