

ESTUDIO DEL EFECTO DE UNA COMBINACIÓN DE CINAMALDEHÍDO Y ACEITE DE AJO (NEXT ENHANCE 300) SOBRE EL PERFIL DE FERMENTACIÓN RUMINAL Y PRODUCCIÓN DE METANO

M. Blanch¹, P.W. Cardozo¹, M. D. Carro², M. J. Ranilla²

¹Novus Spain, 43120 Constantí (Tarragona). (marta.blanch@novusint.com)

²Departamento de Producción Animal, Universidad de León, 24071 León. IGM (CSIC-ULE). Finca Marzanas, s/n. 24348, Grulleros, León.

INTRODUCCIÓN

El mercado europeo demanda cada vez más una producción animal más segura y sostenible. En el caso del vacuno lechero, esto se traduce en la prohibición de los antibióticos como promotores del crecimiento para evitar algún tipo de residuo en la leche (activa desde el 1 de enero de 2006, Reglamento 1831/2003/CE), y en reducir las emisiones que producen estos animales que, desde el punto de vista medioambiental, son perjudiciales (básicamente metano y amoníaco). El problema que surge es encontrar alguna alternativa natural que tenga unos efectos que se asemejen lo más posible a los producidos por los antibióticos ionóforos (mejora de la eficiencia energética, incrementando la producción de propionato, y reduciendo la producción de acetato, metano y amoníaco). En los últimos años ha habido un gran esfuerzo en encontrar alguna alternativa, y parece ser que el uso de extractos de plantas podría ser una opción viable. Estudios previos indican algunos resultados positivos del cinamaldehído (**CIN**) y del aceite de ajo por separado (Busquet y col., 2005). El presente trabajo tiene el objetivo de evaluar el efecto de un producto comercial (Next Enhance 300, **NE300**, combinación de CIN y aceite de ajo) sobre la fermentación ruminal y en concreto sobre la producción de metano mediante un sistema de fermentación in vitro.

MATERIAL Y MÉTODOS

El estudio se llevó a cabo en las instalaciones del Departamento de Producción Animal de la Universidad de León, utilizando un sistema de cultivos discontinuos de microorganismos ruminales. Se utilizó como sustrato de incubación una dieta 60:40 heno de alfalfa:concentrado. Previamente a la incubación se prepararon las mezclas del sustrato con el aditivo NE300 para alcanzar dosis finales del producto de 200, 300 y 400 mg/L. El tratamiento control (**CTR**) no contenía aditivo. Para la incubación se utilizaron botellas de vidrio de 120 ml de capacidad y en el interior de cada una se pesaron 300 mg del sustrato de la dieta correspondiente. Cada botella se llenó con 30 ml de una mezcla 1:4 (vol:vol) del medio de cultivo descrito por Goering y Van Soest (1970; no contiene tripticasa) y de fluido ruminal. El inóculo se obtuvo de 4 ovejas fistuladas en el rumen alimentadas con la misma dieta utilizada como sustrato en la prueba in vitro. La dosificación de la mezcla en las botellas se realizó en condiciones de anaerobiosis y manteniendo la temperatura en 39°C. Tras la dosificación, las botellas se cerraron herméticamente con un tapón de caucho y cápsulas de aluminio y se colocaron en un incubador a 39°C durante 24 horas. Al final del periodo de incubación, se midió la cantidad de gas producido en cada botella y se tomó una muestra para determinar la concentración en metano (Martínez y col., 2010). Posteriormente, se abrieron las botellas, se midió inmediatamente el pH y se tomaron muestras para analizar la concentración en ácidos grasos volátiles (**AGV**) y amoníaco (Carro y Miller, 1999). Las incubaciones se repitieron en 4 días diferentes. El porcentaje de recuperación de hidrógeno se estimó a partir de las producciones netas de acetato, propionato, butirato, valerato y metano (Demeyer, 1991). La cantidad de materia orgánica aparentemente fermentada en cada bote fue estimada a partir de la producción de AGV utilizando la ecuación propuesta por Demeyer (1991).

Los resultados obtenidos se analizaron utilizando el PROC MIXED del SAS. Cada dosis de NE300 fue comparada con el CTR mediante el test de Dunnett.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la Tabla 1 se muestran los resultados del efecto de NE300 a diferentes dosis sobre la fermentación ruminal. Los resultados indican que NE300 a una dosis de 200 mg/mL disminuyó la relación acetato:propionato ($P < 0,01$), la producción de metano ($P < 0,001$) y la relación metano/AGV ($P < 0,001$) comparado con el CTR, pero no afectó ($P > 0,05$) a la cantidad total de AGV (1706 y 1785 μmol CTR y NE300, respectivamente) ni a la proporción molar de ningún AGV. NE300 a una dosis de 300 mg/mL disminuyó la proporción de acetato ($P < 0,01$), la relación acetato:propionato ($P < 0,001$), la concentración de amoníaco ($P < 0,10$) y de metano ($P < 0,001$), y aumentó la proporción de propionato ($P < 0,01$), sin afectar a la cantidad AGV totales (1706 y 1730 μmol CTR y NE300, respectivamente) ni a la materia orgánica aparentemente fermentada (146 y 149 mg, CTR y NE300, respectivamente). Estudios previos realizados por Busquet y col. (2005, 2006) observaron resultados similares, aunque estos autores también observaron aumentos en la proporción molar de butirato con dosis aproximadas de 300 mg/L de aceite de ajo. Los datos sugieren que moderadas concentraciones de aceite de ajo juntamente con el CIN disminuyen la producción de metano y aumentan la producción de propionato, sin afectar a la proporción de butirato, lo que permite una mejor eficiencia energética, obteniendo resultados similares a los que esperados con antibióticos ionóforos.

Tabla 1. Efecto de la adición de Next Enhance 300 (NE300) sobre el perfil de fermentación ruminal in vitro.

	Dosis NE300 (mg/L)				ESM ¹	P =
	0 (Control)	200	300	400		
pH	6,74	6,74	6,74	6,74	0,014	0,998
Nitrógeno amoniacal (mg/L)	297	284	270 [†]	269 [†]	7,14	0,069
Gas (mL)	72,3	71,2	68,1	61,2 ^{**}	1,70	0,005
Metano (μmol)	476	210 ^{***}	151 ^{***}	91,6 ^{***}	20,7	<0,001
Ácidos Grasos Volátiles (AGV; μmol)	1706	1785	1730	1533 [*]	50,3	0,031
Proporción AGV (mol /100 mol):						
Acetato	61,7	59,8	56,5 ^{**}	54,0 ^{***}	1,13	0,005
Propionato	22,9	24,8	27,1 ^{**}	26,9 ^{**}	0,78	0,014
Butirato	10,5	10,6	11,5	13,5 [†]	1,08	0,237
Isobutirato	0,75	0,58	0,50	0,66	0,085	0,256
Isovalerato	1,86	1,83	1,67	1,56 [*]	0,084	0,099
Valerato	2,32	2,44	2,74	3,46 ^{**}	0,178	0,006
Acetato:Propionato (mol/mol)	2,69	2,42 ^{**}	2,08 ^{***}	2,01 ^{***}	0,080	<0,001
Metano/AGV ($\mu\text{mol}/\mu\text{mol}$)	0,279	0,123 ^{***}	0,090 ^{***}	0,059 ^{***}	0,0138	<0,001
Recuperación de hidrógeno (%)	98,6	68,9 ^{***}	65,8 ^{***}	61,6 ^{***}	3,30	<0,001
Materia Orgánica aparentemente fermentada (mg)	146	153	149	133 [*]	3,42	0,013

¹ ESM: error estándar de la media.

[†] Diferente al Control ($P < 0,10$); ^{*} Diferente al Control ($P < 0,05$); ^{**} Diferente al Control ($P < 0,01$); ^{***} Diferente al Control ($P < 0,001$).

Sin embargo, la dosis de 400 mg NE300/mL disminuyó ($P < 0,05$) la producción total de AGV (1706 y 1533 μmol CTR y NE300, respectivamente) y la materia orgánica aparentemente fermentada comparado con el CTR (146 y 133 mg, respectivamente), sugiriendo alguna inhibición de la fermentación ruminal.

Los resultados muestran el potencial de estos metabolitos secundarios para modificar la fermentación ruminal a favor de una mayor producción de propionato y sin afectar la producción total de AGV, lo que indicaría una mayor disponibilidad de energía para el animal. Por otro lado, la reducción de la producción de metano sugiere que esta combinación de cinamaldehído y aceite de ajo puede ser una alternativa en los programas de reducción de las emisiones contaminantes. Es necesario continuar con las investigaciones para confirmar en condiciones in vivo los resultados observados in vitro.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Busquet y col. (2005) J. Dairy Sci. 88:4393-4404.
- Busquet y col. (2006) J. Dairy Sci. 89:761-771.
- Carro y Miller. (1999) Br. J. Nutr. 38:371-384.
- Demeyer (1991) In: Jouany, J.P. (ed.) *Rumen Microbial Metabolism and Ruminant Digestion*. INRA Editions, Paris, pp. 217-237.
- Goering y Van Soest (1970). Agric. Handbook n.379. Agric.Res.Serv., USDA. Washington DC.
- Martinez y col. (2010) Anim. Feed Sci. Technol. 158:126-135.

STUDY OF THE EFFECT OF A CINNAMALDEHYDE AND GARLIC OIL COMBINATION (NEXT ENHANCE 300) ON RUMEN FERMENTATION PROFILE AND METHANE PRODUCTION

ABSTRACT: The objective of this study was to analyze the effects of 3 doses (200, 300 and 400 mg of product/L) of NEXT Enhance 300 (**NE300**; containing cinnamaldehyde and garlic oil) on in vitro ruminal fermentation. Batch cultures (120 mL bottles) of mixed ruminal microorganisms (**BCRM**) were used to test the effects of the additive. Three hundred mg of 60:40 alfalfa hay:concentrate diet was used as a basal substrate. Rumen fluid was obtained from 4 rumen-cannulated Merino sheep fed the same diet incubated in BCRM, mixed and strained through 4 layers of cheesecloth into an Erlenmeyer flask with an O_2 -free headspace. Particle-free fluid was mixed with the buffer solution of Goering and Van Soest (1970; no trypticase added) in a proportion 1:4 (vol/vol) at 39°C under continuous flushing with CO_2 . Thirty mL of buffered rumen fluid were added into each bottle under CO_2 flushing and were sealed with rubber stoppers and aluminium caps, and incubated at 39°C. After 24h of incubation, total gas production was measured, and a gas sample was removed for methane production. Bottles were then uncapped, the pH was measured immediately, and samples for volatile fatty acid (**VFA**) and ammonia-N analyses were taken. Incubations were repeated on 4 different days. Differences were declared at $P < 0.05$. Dose of 400 mg/L of NE300 decreased total VFA production and apparently fermented organic matter compared to control (**CTR**, no additive), thus indicating some inhibition of ruminal fermentation. NE300 at 200 mg/L reduced acetate:propionate ratio, methane production and methane/VFA ratio compared to CTR. NE300 at 300 mg/L reduced ammonia-N concentrations ($P = 0.069$), methane production, acetate proportion, and acetate:propionate ratio, and increased propionate proportion compared to CTR. In conclusion, NE300 at 300 mg/L decreased methane production and increased propionate proportion without affecting total VFA production, and this would indicate a higher supply of energy for the host animal.

Key Words: garlic oil, cinnamaldehyde, methane, rumen fermentation