

## **EFFECTO DE LA INCLUSIÓN DE ACEITES ESENCIALES EN DIETAS PARA EL CEBO DE TERNEROS SOBRE LA FERMENTACIÓN *IN VITRO* DE CEBADA**

Amanzougarene, Z., Yuste, S., Vega, A. y Fondevila, M.

Departamento de Producción Animal y Ciencia de los Alimentos, Instituto Agroalimentario de Aragón (IA2), Universidad de Zaragoza-CITA. Miguel Servet 177, 50013 Zaragoza. [mfonde@unizar.es](mailto:mfonde@unizar.es)

### **INTRODUCCIÓN**

La intensificación de los sistemas de producción de carne en rumiantes supone la aparición frecuente de procesos de acidosis (Nagaraja y Titgemeyer, 2007), pero un buen manejo alimentario puede prevenir la aparición de estos trastornos digestivos. El uso de aditivos zootécnicos en dietas para ganado vacuno, entre ellos los aceites esenciales, ha generado interés (Busquet et al., 2006; Benchaar et al., 2007), pero la mayor parte de los estudios realizados con estos compuestos bioactivos se han enfocado a dietas de ganado lechero para reducir la producción de metano, y para mejorar la producción y la calidad de leche. El objetivo de este trabajo fue estudiar, en condiciones *in vitro*, si la inclusión de aceites esenciales en dietas ricas en concentrados para el cebo de terneros puede reducir o ralentizar el ritmo de la fermentación microbiana y con ello evitar el descenso de pH ruminal, contribuyendo a la prevención de la acidosis.

### **MATERIAL Y MÉTODOS**

Se realizaron tres tandas de incubación *in vitro* de 24 horas, a 39 °C y en atmósfera de CO<sub>2</sub>, en un sistema con cultivos ruminales no renovados. Se empleó cebada como modelo de sustrato concentrado, sola o suplementada con tres niveles de eugenol (60, 120 y 180 mg/g) y cinamaldehído (30, 60 y 90 mg/g), provistos por NOREL Animal Nutrition, y una mezcla comercial de distintos aceites esenciales (CRINA Ruminants, DSM Nutritional Products; 30, 60 y 90 mg/g). Se incubaron tres botellas por tratamiento y tanda, con 80 ml de medio de incubación y 500 mg de sustrato, reduciendo la concentración de bicarbonato en la solución de incubación para mantener el pH a 6,2 (Amanzougarene et al., 2015). Como inóculo se empleó líquido de rumen procedente de tres terneros de cebo canulados, utilizando inóculo de un ternero diferente en cada tanda. Se midió la producción de gas por variaciones de presión a las 2, 4, 6, 8, 10, 12, 18 y 24 h de incubación, expresada por unidad de materia orgánica (MO). A las 8 h se determinó el pH del medio en una botella por tratamiento. Al finalizar la incubación, se determinó el pH y se estimó la desaparición de materia seca (dMS). La masa microbiana se determinó por centrifugación de la fase líquida a 10.000 x g, durante 20 minutos (Hsu y Fahey, 1990).

Los resultados se analizaron estadísticamente por ANOVA, considerando la tanda de incubación como bloque y la media de las botellas como unidad experimental. Los niveles de inclusión de cada aditivo se compararon respecto al control (sin aditivo) mediante el test de Dunnett y se establecieron contrastes ortogonales para comparar los aditivos entre sí y contrastes polinomiales (lineal y cuadrático) para estimar la tendencia en la respuesta de cada aditivo. Las diferencias se consideraron significativas cuando  $P < 0,05$ .

### **RESULTADOS Y DISCUSION**

Independientemente de su nivel, la inclusión de eugenol no afectó a la producción de gas, excepto a las 24 h, cuando se observó un descenso cuadrático ( $P < 0,05$ ) al incrementar el nivel de inclusión (Tabla 1). La adición de cinamaldehído promovió un descenso en la producción de gas a todas las horas de incubación, siendo la evolución de la respuesta cuadrática. Los niveles medio y alto promovieron una menor producción de gas en relación a la cebada sin suplementar ( $P < 0,05$ ). Por el contrario, la inclusión de la mezcla promovió un aumento lineal del volumen de gas producido a partir de las 8 h de incubación ( $P < 0,05$ ). La comparación entre los diferentes aditivos muestra que, a lo largo de todo el periodo de control, la adición de la mezcla promovió un mayor volumen de gas que el eugenol ( $P < 0,05$ ) y cinamaldehído ( $P < 0,001$ ), observándose también una mayor producción de gas con la inclusión de eugenol que con la de cinamaldehído ( $P < 0,001$ ).

**Tabla 1.** Volumen de gas producido (ml/g MO) a distintos tiempos de incubación in vitro, con cebada sola (0) o con tres niveles (bajo, medio y alto) de eugenol, cinamaldehido y mezcla

	Nivel	tiempo de incubación, h					
		2	6	10	12	18	24
Control	0	15,9	45,4	71,1	82,9	99,3	117,9
Eugenol	Bajo	13,0	44,5	70,2	80,3	95,4	111,6
	Medio	12,9	42,1	64,9	75,6	88,5	103,4
	Alto	10,6	40,0	62,1	71,0	85,1	99,9
valor medio	---	12,2	42,2	65,7	75,6	89,7	105,0
<i>P lineal</i>		NS	NS	NS	NS	NS	NS
<i>P cuadrática</i>		NS	NS	NS	NS	NS	0,047
Cinamaldehido	Bajo	10,6	34,5	59,5	70,4	84,7	100,2
	Medio	6,6*	19,9*	35,4*	43,3*	57,1*	72,7*
	Alto	5,3*	15,0*	27,9*	34,8*	48,7*	63,5*
valor medio	---	7,5	23,1	40,9	49,5	63,5	78,8
<i>P lineal</i>		NS	NS	NS	NS	NS	NS
<i>P cuadrática</i>		0,014	0,001	0,001	0,001	0,001	0,001
Mezcla	Bajo	16,0	45,7	71,9	83,0	99,2	116,8
	Medio	16,1	48,1	77,5	90,6	109,5	128,1
	Alto	16,4	51,8	86,2	99,6	115,4	132,1
valor medio	---	16,2	48,5	78,5	91,1	108,0	125,7
<i>P lineal</i>		NS	NS	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05
<i>P cuadrática</i>		NS	NS	NS	NS	NS	NS
desviación residual estándar		3,35	6,56	8,40	9,24	10,03	10,62

NS:  $P > 0,05$ ; †  $P < 0,10$ ; \*: valores con asterisco indican diferencias con el Control a  $P < 0,05$

La inclusión de eugenol aumentó cuadráticamente ( $P=0,002$ ) el pH a las 24 h (Tabla 2), observándose un efecto del nivel más alto respecto al control. Este parámetro también aumentó, linealmente ( $P=0,03$ ), con la inclusión de la mezcla, aunque en menor magnitud. No se observó respuesta en el pH del medio con la inclusión de cinamaldehido ( $P > 0,05$ ). Resultados previos (Amanzougarene et al., 2015) indican que, en las presentes condiciones de incubación, la capacidad tampón se consume después de las 8 h debido a la reducción de la concentración del tampón para ajustar el pH del medio a 6,2. Por tanto, las diferencias en el pH a 8 y 24 h muestran el potencial acidificante en presencia del aditivo. La dMS descendió con la inclusión de eugenol y cinamaldehido, mostrando una evolución cuadrática ( $P < 0,001$ ) y lineal ( $P < 0,001$ ), respectivamente, mientras que aumentó linealmente con la adición de la mezcla ( $P < 0,001$ ). La inclusión eugenol provocó un descenso cuadrático de la masa microbiana ( $P < 0,001$ ), aunque hay que tener en cuenta que el método de estimación de este parámetro es poco específico, y determina únicamente la masa microbiana de la fase líquida, por lo que debe tomarse con precaución.

Los resultados sugieren que en dietas para terneros de cebo no cabe esperar un efecto manifiesto de la inclusión de eugenol sobre la fermentación de la cebada, aunque puede promover un ambiente más favorable en términos de pH. Por su parte, tanto la producción de gas como la dMS disminuyeron con la incorporación de cinamaldehido, explicándose la ausencia de efecto sobre el pH de incubación por el descenso en la magnitud de la fermentación. La reducción de la desaparición de materia seca de la cebada durante el proceso de fermentación indica que ambos aceites esenciales pueden aumentar la disponibilidad de sustrato disponible para su utilización en tramos posteriores del tracto digestivo, aunque no ha sido comprobado en este trabajo. La inclusión de la mezcla aumentó la fermentación de la cebada, tanto en producción de gas producido como en dMS, sin afectar negativamente el pH de incubación. La combinación de aceites esenciales puede promover un efecto diferente debido a potenciales interacciones sinérgicas o antagónicas sobre la fermentación de cereales en dietas para terneros de cebo, más allá de su incorporación individual. Así, la mezcla de aceites esenciales mejora la fermentación de la

cebada y aumenta la desaparición ruminal de sustrato, pero mantiene similares condiciones de pH.

**Tabla 2.** Valores de pH a las 8 y 24 h de incubación, y desaparición de materia seca (dMS) y masa microbiana (mg/ml) a las 24 h, con cebada sola (0) o con tres niveles (bajo, medio y alto) de eugenol, cinamaldehído y mezcla.

	Nivel	pH 8 h	pH 24 h	dMS	Masa microbiana
Control	0	6,18	5,91	0,424	1,99
Eugenol	Bajo	6,18	5,97	0,404*	1,65*
	Medio	6,21	6,04	0,369*	1,52*
	Alto	6,14	6,06*	0,355*	1,51*
valor medio	---	6,18	6,02	0,376	1,56
<i>P</i> lineal		NS	NS	NS	0,01
<i>P</i> cuadrática		NS	0,002	<0,001	<0,001
Cinamaldehído	Bajo	6,13	5,99	0,399	2,05
	Medio	6,13	5,96	0,374*	2,10
	Alto	6,17	5,95	0,347*	2,19
valor medio	---	6,14	5,97	0,373	2,11
<i>P</i> lineal		NS	NS	<0,001	NS
<i>P</i> cuadrática		NS	NS	NS	NS
Mezcla	Bajo	6,17	5,93	0,433	1,99
	Medio	6,17	5,97	0,489*	2,03
	Alto	6,17	6,01	0,487*	2,04
valor medio	---	6,17	5,97	0,470	2,02
<i>P</i> lineal		NS	<0,05	<0,001	NS
<i>P</i> cuadrática		NS	NS	NS	NS
desviación residual estándar		0,062	0,053	0,0164	0,130

NS:  $P > 0,05$ ; †  $P < 0,10$ ; \*: valores con asterisco indican diferencias con el Control a  $P < 0,05$

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Amanzougarene, Z, Schauf, S, Fondevila, M. 2015. XVI Jornadas de AIDA, vol I: 212-214
- Benchaar, C, Chaves, AV, Fraser, GR, Wang, Y, Beauchemin, KA, & McAllister, TA. 2007. *Can. J. Anim. Sci.* 87: 413-419
- Busquet, M, Calsamiglia, S, Ferret, A, & Kamel, C. 2006. *J. Dairy Sci.* 89:761-771
- Hsu JT & Fahey GCJr. 1990. *J. Dairy Sci.* 73: 149-152
- Nagaraja TG & Titgemeyer EC. 2007. *J. Dairy Sci.* 90: E17-38

**Agradecimientos:** Trabajo financiado con el Proyecto AGL 2013-46820 (MINECO), con la ayuda del Departamento de Industria e Innovación (Gobierno de Aragón) y el Fondo Social Europeo. S. Yuste disfrutó una beca FPU (Ministerio de Educación, Cultura y Deporte).

### Effect of adding essential oil compounds in diets for intensive beef production on *in vitro* barley fermentation

**Abstract.** Fermentation of barley, alone or with three levels of essential oil compounds (eugenol, cinnamaldehyde and a commercial mixture) was assayed *in vitro* in a low-buffered medium with rumen inoculum from beef steers. Eugenol did not affect gas production from barley but increased pH at 24 h ( $P < 0,05$ ), whereas cinnamaldehyde linearly reduced gas volume ( $P < 0,001$ ) but did not affect pH. Inclusion of a mixture of essential oils increased gas production and dry matter disappearance ( $P < 0,01$ ), while linearly increased incubation pH at 24 h ( $P = 0,03$ ). Use of essential oil compounds depends on the objectives established, since their effect largely differ among the nature of the compounds used.

**Keywords:** essential oils, pH, *in vitro* barley fermentation, intensive beef feeding