

ESCUELA DE NUTRICION

Prof. MARIA A. LOPEZ

INHIBICION DE LA FORMACION DE ACIDOS GRASOS VOLATILES DURANTE LA FERMENTACION RUMINAL "IN VITRO" POR COLISTINA, KANAMICINA Y PENICILINA

J. SILVA, J. LLOPIS y S. ZAMORA

RESUMEN

Se ha estudiado el efecto de tres antibióticos: Kanamicina, Penicilina y Colistina a las dosis de 0.125 a 2,50 mg/ml; 50 a 1.000 U.I./ml; 500 a 7.500 U.I./ml, respectivamente, sobre la formación de ácidos grasos volátiles, siguiendo el método "in vitro" de Tilley y Terry, con un sustrato de almidón, celulosa y urea (47,5, 47,5 y 5 %) respectivamente. Los tres antibióticos son capaces de inhibir la producción total de ácidos grasos volátiles, siendo la Penicilina el menos eficaz. La Kanamicina y la Colistina aumentan la relación acético-propiónico pero no la Penicilina. Ninguno de los antibióticos ensayados tienen una acción beneficiosa sobre la producción de ácido propiónico.

SUMMARY

The effect of three antibiotics (Kanamycin, Penicillin and Colistin), at doses from 0,125 to 2,50 mg/ml; 50 to 1.000 U.I./ml; 500 to 7.500 U. respectively) on the production of volatile fatty acids, has been studied according to the Tilley and Terry's method "in vitro", with a substract of starch, cellulose and urea (47,5, 47,5 and 5 %) respectively. All three antibiotics are able to inhibit the total production of volatile fatty acids, but Penicilline is the less effective. Kanamycin and Colistin increase the relation acetic-propionic, but Penicillin does not. None of the three tested antibiotics has a possitive effect on the propionic acid production.

INTRODUCCION

La alteración de la fermentación ruminal, de modo que se produzca más ácido propiónico y menos ácido acético por los microorganismos, puede aumentar la eficacia nutritiva de la ración para el hospedador, dada la mayor efectividad del ácido propiónico desde el punto de vista energético, que repercute favorablemente sobre la síntesis proteica. En estos últimos años, numerosos trabajos han demostrado la efectividad de los antibióticos para mejorar la producción cárnica cuando son agregados a las raciones de los rumiantes (1); así RICHARDSON et al. (2) y POTTER et al. (3) obtienen, utilizando la monensina, un aumento del porcentaje molar del ácido propiónico; PURSER et al. (4) también encuentran resultados similares con la tilosina. Son varios los investigadores que han tratado este tema y se ha probado un gran número de antibióticos, obteniendo resultados diversos (5, 6, 7, 8).

Algunos autores (9, 10, 11) han sugerido el empleo de técnicas de fermentación ruminal in vitro para este tipo de estudios, si bien JOHNSON (12) y PRINS (8) aconsejan prudencia cuando se extrapolan las conclusiones de un sistema de fermentación ruminal in vitro a los procesos que ocurren en el rumen intacto. Sin embargo RICHARDSON et al. (2) observaron cambios similares in vivo e in vitro estudiando los efectos de la monensina sobre el perfil de ácidos grasos volátiles.

MATERIAL Y METODOS

Se utilizó el método de fermentación ruminal in vitro de TILLEY y TERRY (13), el líquido ruminal procedía de dos corderos de raza Segureña, machos, de un año de edad y unos 35 Kg. de peso, provisto de una cánula en el saco dorsal del rumen, alimentados con un pienso standard dos veces al día, y adaptados a las condiciones experimentales durante tres meses, antes del comienzo de los ensayos.

Las muestras de líquido ruminal se tomaron cuatro horas después de la primera comida, retirando el agua cuatro horas antes de la toma de muestra, que se realizó mediante succión.

El tiempo de incubación se fijó en dos horas cincuenta minutos, de acuerdo con lo recomendado por otros autores (14, 15).

El sustrato empleado fue una mezcla de almidón, celulosa y urea 47,5, 47,5 y 5%, respectivamente). Los antibióticos se agregaron al sustrato media hora antes de la inoculación, a las siguientes concentraciones: Kanamicina: 0,125, 0,625, 1,25 y 2,50 mg/ml; Penicilina: 50, 250, 500 y 1.000 U.I./ml, y Colistina: 500, 2.500, 5.000 y 7.500 U.I./ml.

Para la determinación de los ácidos grasos volátiles las muestras fueron desproteinizadas previamente y adicionadas de un standard interno según el método de CORRIN (16); posteriormente se congela a -20° hasta el momento del análisis, que se realiza por cromatografía gaseosa en columna de vidrio (150 x 0,50 cm. empaquetada con carbomax y ácido tereftáltico) a 140° C.

RESULTADOS Y DISCUSION

La producción de ácidos grasos volátiles totales se reduce significativamente por el tratamiento con los antibióticos (Tablas I, II, III), lo cual está de acuerdo con los resultados obtenidos por O'CONNOR et al. (17), observándose la existencia de una correlación negativa dosis-efecto ($p < 0,001$) en los tres casos. Los efectos de la Kanamicina y Colistina son semejantes entre sí, y ambos son superiores al de la Penicilina, a las dosis empleadas por nosotros.

En nuestros resultados (Tablas I, II y III) se observa que la Kanamicina provoca disminuciones estadísticamente significativas a todos los niveles probados para los tres ácidos, mientras que la Colistina comienza a tener efectos significativos a partir de su segunda dosis (1.000 U.I./ml). La Penicilina necesita una dosis diez veces mayor a la inicial para que aparezcan diferencias significativas en el ácido propiónico, cinco veces mayor en el caso del acético y para el butírico ninguna de las dosis es eficaz, estando esto último de acuerdo con los resultados obtenidos por O'CONNOR et al. (7), al estudiar el efecto de la Penicilina sobre la fermentación ruminal de una dieta semipurificada in vitro.

Aparentemente nuestros datos contrastan con los encontrados por PRINS (8), según los cuales la Kanamicina y Colistina carecen de efecto sobre la fermentación de la celulosa in vitro,

TABLA I.—FORMACION DE ACIDOS GRASOS VOLATILES EN mM/100 ml

KANAMICINA

Dosis	C ₂	C ₃	C ₄	Total	C ₂ /C ₃
Control	197,0 ± 13,44	118,6 ± 14,37	27,1 ± 3,13	342,7 ± 28,31	1,66
0,125 mg/ml	146,8 ± 3,73 (*)	80,4 ± 8,79 (Δ)	18,6 ± 1,10 (Δ)	245,8 ± 9,23 (*)	1,82
0,625 mg/ml	127,2 ± 3,71 (**)	54,9 ± 2,19 (**)	23,7 ± 4,50	205,8 ± 9,10 (**)	2,32
1,250 mg/ml	100,4 ± 6,63(***)	47,6 ± 6,94 (**)	13,9 ± 1,65 (**)	161,9 ± 13,07 (***)	2,10
2,50 mg/ml	87,9 ± 2,51(***)	39,3 ± 2,73(***)	16,5 ± 2,21 (Δ)	144,3 ± 6,42 (***)	2,20

(Δ) p < 0,05
 (*) p < 0,02
 (**) p < 0,01
 (***) p < 0,001

TABLA II.—FORMACION DE ACIDOS GRASOS VOLATILES EN mM/100 ml

PENICILINA

Dosis	C ₂	C ₃	C ₄	Total	C ₂ /C ₃
Control	150,5 ± 5,82	105,7 ± 7,05	25,9 ± 2,03	282,1 ± 12,27	1,42
50 U.I./ml	135,5 ± 3,85	90,4 ± 7,52	25,1 ± 1,51	251,0 ± 9,40	1,50
250 U.I./ml	112,3 ± 2,46 (***)	79,7 ± 9,96	25,3 ± 2,08	217,2 ± 13,43 (**)	1,41
500 U.I./ml	111,9 ± 1,68 (***)	70,6 ± 3,30 (**)	23,8 ± 2,44	206,3 ± 6,82 (***)	1,58
1.000 U.I./ml	84,6 ± 9,59 (***)	69,8 ± 7,99 (*)	22,0 ± 1,80	176,4 ± 14,58 (***)	1,21

(*) p < 0,02
 (**) p < 0,01
 (***) p < 0,001

TABLA III.—FORMACION DE ACIDOS GRASOS VOLATILES EN mM/100 ml

COLISTINA

Dosis	C ₂	C ₃	C ₄	Total	C ₂ /C ₃
Control	150,5 ± 10,60	98,0 ± 7,48	15,8 ± 1,16	264,3 ± 20,73	1,53
500 U.I./ml	127,4 ± 6,11	91,6 ± 9,95	17,3 ± 2,23	236,3 ± 18,67	1,39
2.500 U.I./ml	94,7 ± 7,20 (**)	68,8 ± 6,59 (Δ)	12,0 ± 0,99 (Δ)	175,0 ± 12,63 (**)	1,39
5.000 U.I./ml	73,9 ± 8,99(***)	33,4 ± 6,59 (**)	10,6 ± 1,06 (**)	117,9 ± 14,87 (**)	2,21
7.500 U.I./ml	62,2 ± 3,05(***)	32,2 ± 2,34(***)	10,0 ± 1,29 (**)	104,4 ± 5,40 (***)	1,93

(**) p < 0,01

TABLA IV.

KANAMICINA

Dosis	C ₂	C ₃	C ₄
Control	57,5	34,6	7,9
0,125 mg/ml	59,7	32,7	7,6
0,625 mg/ml	61,8	26,7	11,5
1,250 mg/ml	62,3	29,4	8,6
2,50 mg/ml	60,9	27,6	11,4

TABLA V.

PENICILINA

Dosis	C ₂	C ₃	C ₄
Control	53,1	37,3	9,6
50 U.I.	54,0	36,0	10,0
250 U.	51,7	36,7	11,6
500 U.	54,2	34,2	11,5
1.000 U.I.	47,9	39,6	12,5

TABLA VI.

COLISTINA

Dosis	C ₂	C ₃	C ₄
Control	56,9	37,1	6,0
500 U.I.	53,9	38,8	7,3
2.500 U.	54,1	39,0	6,8
5.000 U.I.	62,7	28,3	9,0
7.	59,6	30,8	9,6

lo que atribuimos a que las dosis probadas por este autor (1 y 5 g/ml) son muy inferiores a las utilizadas por nosotros.

La relación acético/propiónico aumenta ligeramente bajo la acción de la Kanamicina y Colistina, debido a una mayor disminución en la producción de propiónico respecto a la de acético, por el contrario y de acuerdo con BEEDE et al. (5) en el caso de la Penicilina esta relación se mantiene, observándose tan solo una ligera disminución cuando se emplean dosis muy elevadas.

Las diferencias en porcentajes molares de los ácidos grasos volátiles son de particular interés por el hecho de que las proporciones relativas de los ácidos individuales fueron variables en función del antibiótico añadido (Tablas IV, V y VI). La Kanamicina y Colistina provocaron una clara disminución del porcentaje de ácido propiónico, mientras que el de ácido acético se vió poco modificado aunque se observa una ligera tendencia a aumentar. La Penicilina mantuvo casi constante los porcentajes de ácido propiónico y redujo escasamente los de ácido acético. Como el ácido acético es un metabolito predominante de la digestión microbiana de la celulosa y como la Penicilina causa una leve disminución en la proporción molar de dicho ácido, se podría pensar que este antibiótico deprime la digestión de la celulosa, lo cual estaría de acuerdo con PRINS (8). DINIUS et al. (18) vieron que la monensina, que también actúa sobre los microorganismos Gram +, disminuye la proporción molar del ácido acético producido.

Tras el estudio de los resultados obtenidos con estos antibióticos, podríamos decir que no son de utilidad para obtener una mayor eficacia en la producción de carne, ya que solo la Penicilina produce un aumento en la producción de ácido propiónico, pero a dosis muy elevadas, lo cual podría ser perjudicial para la flora del rumen.

BIBLIOGRAFIA

- 1.—KOLARI, O. E., HARVEY, A. L., MEISKE, J. C.: AUNAN, W. J. y HANSEN, L. E.: J. Animal Sci., 19, 1041 (1960).
- 2.—RICHARDSON, L. F., RAUN, A. CHER, R. P.: J. Animal Sci.,
- 3.—POTTER, E. L., COOLEY, C. O., RAUN, A. P., RICHARDSON, L. F. y RATHMACHER, R. P.: J.
- 4.—PURSER, D. B., KLOPFENSTEIN, T. J. y CLINE, J. H.: J. Animal Sci., 1039-1044 (1965).
- 5.—BEEDE, D. K. y FARLIN, S. D.: J. Animal Sci., 45 (2), 385-391 (1977).
- 6.—McDOUGALL, E: J. Bioch.,
- 7.—O'CONNOR, J. J., MYERS, G. S., MAPLEDEN, D. J. Animal Sci., 32 (5) (1971).
- 8.—PRINS, R. A.: Br. Vet. J., 125 (5), XVIII-XX (1969).
- 9.—HEUTER, T. G., GIBSONS, R. J., SHAW, J C y DOETSCH, R. N.: J. Dairy Sci., 41, 651 (1958).
- 10.—HUNGATE, R. E.: The rumen and its microbes. Academic Press. New York (1966), p. 434.

- 11.—JOHNSON, R. R.: *J. Animal Sci.*, 22, 792 (1963).
- 12.—JONSON R. R.: In *techniques and Procedures in Animal Science Research*.
- 13.—TILLEY, J. M. A.
(1963).
- 14.—PHILLIPSON, A.
BROWN: *Brit. J. Nutr.*, 16, 151-155 (1962).
- 15.—SCHWARTZ, H. M. y SCHOEMAN, C. A.:
- 16.—COTTYN, B. G.
- 17.—O'CONNOR, J. J., MYERS, G. S.,
J. Animal Sci.,
- 18.—DINAUS, D.