

NR 33. EFECTO DE LA LIBERACIÓN DE COMPUESTOS FENÓLICOS DE LA PAJA DEBIDA AL TRATAMIENTO CON AMONIACO SOBRE LA ACTIVIDAD FIBROLÍTICA MICROBIANA

M. Fondevila, A.Barrios-Urdaneta¹, G. Muñoz y F. Vicente

Departamento de Producción Animal y Ciencia de los Alimentos, Universidad de Zaragoza. Miguel Servet 177, 50013 Zaragoza, España. FAX: 34-976-761612. E-mail: mfonde@posta.unizar.es

¹Facultad de Agronomía, La Universidad del Zulia, Maracaibo, Venezuela.

Abstract

Effect of phenolic compounds release from straw by ammonia treatment on fibrolytic microbial activity

The effect of release of phenolic compounds promoted by ammonia treatment of straw on rumen microbial action over structural polysaccharides was studied. Samples of barley straw (PC) and ammoniated straw (PT) were incubated in the rumen of sheep fed on either untreated straw plus urea (PU) or PT. Phenolics were solubilized in a higher extent from PT than from PC. Microbial adhesion was higher in PT as substrate ($P < .001$), and also with PT diet ($P < .05$), showing that phenolics had little influence on attachment mechanisms. Total polysaccharidase activity was higher in PT as substrate, but there was a fermentation lag between 4 and 8 h, until phenolics become metabolised. Total and specific enzymatic activity were higher in PU diet, showing that phenolic release inhibits enzyme synthesis and hydrolytic activity.

Palabras claves: Paja, tratamiento con amoníaco, digestión microbiana, compuestos fenólicos.

Key words: Straw, ammonia treatment, microbial digestion, phenolic compounds.

Introducción

El tratamiento con amoníaco de las pajas de cereales promueve un aumento en su degradabilidad ruminal (Fondevila y col., 1994), propiciado por la acción química del álcali sobre los enlaces entre los polisacáridos y la lignina de la pared celular vegetal (Kondo y col., 1994). Sin embargo, la liberación por el proceso de los compuestos fenólicos que actúan como enlace entre estas estructuras ejerce un efecto negativo sobre los microorganismos ruminales (Jung y col., 1983; Theodorou y col., 1987). Chesson (1981) considera insuficientes las concentraciones ruminales habituales para provocar dicha respuesta, aunque admite que en la zona de degradación el efecto negativo puede ser mayor. El balance entre el efecto negativo de la liberación de fenoles, y el efecto positivo de la disponibilidad de un sustrato más accesible y fermentable, sobre la acción digestiva de los microorganismos determinará la magnitud del incremento en la degradabilidad ruminal de la paja debido a su tratamiento. En este trabajo se estudió la liberación de compuestos fenólicos propiciada por el tratamiento de la paja y a qué nivel afecta a la actividad fibrolítica de los microorganismos ruminales y a su evolución.

Material y métodos

Muestras de paja de cebada (PC) y de la misma paja tratada con amoníaco anhidro (35 g/kg; PT) fueron incubadas en bolsas de nylon en el rumen de cuatro ovejas adultas canuladas en el rumen, alimentadas (700 g/d) con paja de cebada con 25 g urea/kg (PU), o PT, en dos periodos experimentales, suplementadas con 20 g de un complemento vitamínico-mineral. Tras 19 días de acostumbramiento a la dieta, se incubaron muestras de PC y PT, durante 4, 8, 12 y 24 h, para determinar la adhesión microbiana al sustrato y la actividad enzimática microbiana asociada a éste. La mitad del residuo de incubación se empleó para estimar la adhesión microbiana analizando su concentración de proteína en relación a seroalbúmina (Bradford, 1976), corrigiendo según la proteína insoluble del sustrato. El resto se hidrolizó con lisozima (Silva y col., 1987) para extraer las enzimas de las bacterias adheridas, y se determinó la actividad de éstas frente a xilano (Xasa) y carboximetilcelulosa (CMCasa) por el método colorimétrico de Nelson-Somogyi (Southgate, 1991). Se determinó también la concentración de proteína del extracto enzimático (PE; Bradford, 1976). La actividad enzimática polisacaridasa se expresó como actividad total (mmoles de glucosa liberados por ml de extracto, minuto y g de residuo seco) o específica (por mg de PE). Se incubaron además dos muestras de cada una de las pajas durante 12 y 24 h, para estimar la desaparición de materia seca y la concentración de compuestos fenólicos residuales según el procedimiento de Lau y Van Soest (1981), expresados como equivalentes de ácido p-cumárico (eqAP). Los resultados se sometieron a análisis de

varianza según un diseño en parcelas divididas, con el efecto animal como bloque, la dieta como parcela, el sustrato incubado como subparcela y el tiempo de incubación como subsubparcela. Las medias experimentales se compararon mediante la mínima diferencia significativa ($P < .05$).

Resultados y discusión

La estimación de la desaparición de compuestos fenólicos en PC y PT incubadas durante 12 y 24 h en relación a su contenido inicial muestra que la cantidad de fenoles residuales se redujo al 39 y 32 % tras 12 h, y al 28 y 21 % después de 24 h, respectivamente. Esto supone que 18,3 y 21,4 g eqAP/kg MS se liberaron en el medio en las primeras 12 h de fermentación ruminal de PC y PT ($P < 0,05$). Teniendo en cuenta su efecto depresor sobre la actividad microbiana (Jung y col., 1983; Theodorou y col., 1987), un aumento de la liberación de fenoles con PT justifica una respuesta negativa de mayor magnitud.

Las medias de los efectos principales a estudio sobre la adhesión y la actividad enzimática se presentan en el cuadro 1. La adhesión microbiana fue superior cuando se incubó PT como sustrato ($P < .001$), y se detectó una mayor adhesión en la dieta PT que en PU ($P < .05$). Estos resultados descartan que los fenoles liberados por el tratamiento pudieran tener un efecto negativo sobre los mecanismos de adhesión microbiana, al menos a las concentraciones alcanzadas en este trabajo.

La actividad enzimática CMCasa es un índice de la actividad de las bacterias celulolíticas, mientras que la actividad Xasa implica a bacterias relacionadas tanto directa como indirectamente en la digestión de la pared celular vegetal. Las actividades Xasa y CMCasa totales aumentaron con el tiempo ($P < .001$) debido al aumento de la adhesión microbiana, mientras que las actividades específicas disminuyeron progresivamente ($P < 0,01$ y $P < 0,05$ para Xasa y CMCasa).

La dieta PU promovió una mayor actividad total Xasa ($P < .05$) y CMCasa ($P < .01$) que PT, con la que incluso llegó a disminuir entre 4 y 8 h. Se observó una tendencia ($P < .10$) a una mayor actividad específica Xasa en la dieta PU, pero no así en relación a CMCasa. Pese a la menor adhesión microbiana al sustrato, la actividad fibrolítica en la dieta PU fue superior, lo que corrobora el mayor potencial de degradación ruminal observado con esta dieta (Fondevila y col., 1993).

La actividad total asociada a las partículas de PT fue mayor ($P < .01$ y $P < .05$ para Xasa y CMCasa) que la asociada a las partículas de PC, en respuesta a la mayor adhesión microbiana, pero no a un aumento de la capacidad hidrolítica de los enzimas, como demuestra el hecho de que la actividad específica CMCasa y Xasa asociada a los residuos de PC fue superior que la asociada a PT ($P < .05$). Mientras la actividad total en PC aumentó de forma lineal con el tiempo, no se observó un aumento en PT entre 4 y 8 h de incubación ($P > .05$), momento de la máxima solubilización de fenoles (Muñoz y col., 1995). Dado que los microorganismos pueden detoxificar los fenoles liberados (Theodorou y col., 1987) el efecto negativo es temporal, y la mayor degradación potencial de PT se hace patente con el tiempo (Fondevila y col., 1993).

Cuadro 1. Valores medios de adhesión (mg proteína/g MS), actividad enzimática total (μmol glucosa/mL/g MS) y específica (μmol glucosa/mL/mg PE) para los efectos principales a estudio.

	Adhesión	Activ. enz. total		Activ. enz. especif	
		CMCasa	Xasa	CMCasa	Xasa
Sustrato: PC	6.51	63.0	171.7	529	1396
PT	8.71 (0.22)	74.3 (3.12)	229.7 (10.84)	320 (49.2)	849 (112.1)
Dieta: PU	6.17	75.2	217.7	429	1251
PT	9.05 (0.40)	62.1 (1.57)	183.8 (7.21)	421 (53.4)	995 (69.4)
Tiempo: 4 h	4.98	40.6	83.1	686	1621
8 h	7.11	44.7	135.8	399	1123
12 h	8.44	85.5	236.2	397	1065
24 h	9.90 (0.34)	103.8 (4.29)	347.7 (12.30)	218 (77.1)	683 (147.5)

Entre paréntesis, error estándar de las medias

Conclusiones

El tratamiento de la paja con amoníaco aumenta la liberación de compuestos fenólicos al medio durante el proceso de digestión ruminal, lo que tiene un efecto depresor de la fermentación microbiana, especialmente al inicio del proceso, y reduce la magnitud de la respuesta en la digestión ruminal de la paja que supone la mayor

disponibilidad de nutrientes. Este efecto depresor no repercute en gran medida sobre los procesos de adhesión microbiana, sino que se manifiesta sobre la síntesis y actividad de las enzimas polisacaridasas de los microorganismos adheridos.

Literatura citada

Bradford, M. M. 1976. *Anal. Biochem.*, 72: 248-254.

Chesson, A. 1981. *J. Sci. Food Agric.*, 32: 745-758.

Fondevila, M., C. Castrillo, J. Gasa y J. A. Guada. 1993. *Anim. Prod.*, 57: 407-413.

Fondevila, M. Castrillo, C. Guada, J.A. y Balcells, J., 1994. *Anim. Feed Sci. Technol.*, 50: 137-155.

Jung, H. J. G., G. C. Fahey y N. R. Merchen. 1983. *Br. J. Nutr.*, 50: 637-651

Kondo, T., T. Ushita y T. Kyuma. 1994. *Anim. Feed Sci. Technol.*, 47: 277-285.

Lau, M. M. y P. J. Van Soest. 1981. *Anim. Feed Sci. Technol.*, 6:123-131.

Muñoz, G., M. Fondevila, C. Castrillo y J. A. Guada 1995. *ITEA*, vol. extra nº16: 39-41

Silva, A. T., R. J. Wallace y E. R. Ørskov. 1987. *Br. J. Nutr.*, 57: 407-415.

Southgate, D. A. T. 1991. *Determination of food carbohydrates*. 2nd ed. Elsevier, Barking.

Theodorou, M. K., D. J. Gascoyne, D. E. Akin y R. D. Hartley. 1987. *Appl. Environ. Microbiol.*, 53: 1046-1050.