



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MÉXICO
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

“INFLUENCIA DEL ACEITE DE AJO EN LA PRODUCCIÓN DE GAS Y
DEGRADABILIDAD DEL RASTROJO DE SORGO Y BAGAZO DE CAÑA DE
AZÚCAR”

“INFLUENCE OF GARLIC OIL ON GAS PRODUCTION AND
DEGRADABILITY OF SORGHUM STRAW AND SUGARCANE BAGASSE”

**ARTICULO ESPECIALIZADO PARA PUBLICAR EN REVISTA
INDIZADA**

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE
MEDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

PRESENTA:

ANGELICA NALLELY SERRANO MIRANDA

Asesores:

DR. ABDELFATTAH ZEIDAN MOHAMED SALEM

DRA. MONA MOHAMED MOHAMED YASSEEN ELGHANDOUR

DR. JUAN CARLOS VAZQUEZ CHAGOYAN



Toluca, Estado de México, Abril 2018

DEDICATORIA

A mi madre Luz María Miranda, por haberme brindado la oportunidad de poder estudiar lo que tanto me apasiona, por ser mi apoyo y pilar más importante durante mi carrera, por haber soportado malos olores, órganos en formol y animales rescatados en casa, por hacerme la persona que soy hoy en día y por su incondicional amor y paciencia.

A mi abuelita Marcelina Martínez (QEPD), por enseñarme que nunca hay que darse por vencido, que las situaciones nunca serán un problema y que el mayor obstáculo que podría tener soy yo misma, por ser la persona que me mostró lo maravilloso que es el estudio y la escuela, me enseñó a valorar el conocimiento y a tener sed de seguir aprendiendo.

A mi esposo David Arriaga, por estar conmigo en la última etapa de este gran proyecto, por no dejarme sola aun cuando yo creía que quería estarlo, por darme ánimos y palabras de aliento cuando pensé que no podría dar un paso más, y por toda su infinita paciencia mientras lograba mis objetivos.

A mi hija Emlin Zurem, a mi pequeña personita por ser un gran aliciente para seguir adelante, por darme el impulso necesario para lograr más de lo que yo pensé que lograría y por ser mi motor para nunca detenerme y ver que este proyecto solo será el inicio de otro más grande.

A mi hermana mayor Guadalupe Yazmin que con sus hermosas palabras me impulsaba a seguir adelante, nunca dejo de animarme a concluir esto, también a mis dos hermanas menores Laura Rosalinda y Lidia Lizeth por defenderme de ella.

A mis profesores, a todos los que me ayudaron a hacer realidad este sueño, los que compartieron sus conocimientos conmigo, los que no se impacientaron en volver a explicarme algo que no entendía y con su experiencia aclararon dudas de la mejor manera posible, por ser las personas que tuvieron que estar ahí aunque estuvieran enfermos y por ser los pilares de mi querida Facultad.

AGRADECIMIENTOS:

No puedo expresar con palabras la inmensa gratitud que siento por la cooperación de las personas que me han ayudado con este proyecto, a aquellas personas que estuvieron a mi lado en todo lo largo y ancho de esta investigación y que me ayudaron a darle forma a este sueño.

Muy en especial deseo agradecer al Dr. Abdelfattah Zeidan Mohamed Salem, a la Dra. Mona Mohamed Mohamed Yasseen Elghandour y al Dr. Juan Carlos Vázquez Chogoyan por su inmenso apoyo para poder lograr este artículo, por ayudarme a entender todo el proceso y nunca dejarme sola cuando me encontraba atorada en algún asunto, en verdad no tienen idea cuán valiosa fue su que ustedes pudieran regalarme tanto de su valioso tiempo.

Un agradecimiento muy especial para mi familia, por todo el amor, cariño y comprensión mientras elaboraba este proyecto.

ÍNDICE

DEDICATORIA.....	ii
AGRADECIMIENTOS:.....	iii
1. Introducción.....	1
2. Revisión Bibliográfica.....	3
2.1 Valor nutritivo del bagazo de caña y rastrojo de sorgo.....	3
2.2 Definición, uso y beneficio de los aceites esenciales.....	4
2.3. Anatomía y fisiología del aparato digestivo de los rumiantes.....	5
2.3.1 Boca.....	5
2.3.2. Saliva y esófago.....	5
2.3.3. Rumen y retículo.....	6
2.3.4. Omaso y Abomaso.....	7
2.4. Fermentación ruminal.....	7
2.5 Microorganismos del rumen.....	8
2.5.1 Bacterias.....	9
2.5.2. Hongos.....	10
2.5.3. Protozoos.....	10
2.5.4. Virus.....	11
2.7. Degradación de los carbohidratos.....	12
2.8 Ácidos Grasos Volátiles (AGV).....	14
2.9 El uso de aceites esenciales en dietas para rumiantes.....	15
2.10 Bagazos y rastrojos como fuente de alimento.....	15
2.10.1 Bagazo de caña.....	16
2.10.2 Rastrojo de sorgo.....	16
3. Justificación.....	17
4. Hipótesis.....	18
5. Objetivo.....	19
6. Materiales y métodos.....	20
7. Análisis químico.....	22
8. Análisis estadísticos.....	23

9. Cinética de producción de gas.	25
10. Resultados	27
ARTICULO CIENTÍFICO	27
Carta de aceptación	40
12. Referencias	41

1. Introducción

Los residuos agrícolas juegan un papel muy importante en los sistemas agrícolas y pecuarios, existe una gran cantidad de estos residuos y subproductos agroindustriales que pueden ser utilizados para alimentar al ganado pero por su bajo valor nutritivo es necesario procesarlos y adicionarles algún complemento alimenticio. El uso de residuos agrícolas fibrosos como el bagazo de caña y el rastrojo de sorgo es limitado como alimento para los animales por su alto contenido en fibra, bajo contenido en proteína cruda (PC), mala palatabilidad y baja digestibilidad de nutrientes (Khattab et al., 2013; Togtokhbayar et al., 2015) que sin más reduce la eficiencia de la utilización digestiva (Khattab et al., 2013; Rojo et al., 2015). Para aumentar el consumo y mejorar la calidad del rastrojo de sorgo y el bagazo de caña se puede considerar el uso de aditivos o aceites esenciales y crudos ya que algunos tienen propiedades estimulantes del apetito, efectos anti-bacterianos y funciones antioxidantes (Bodas et al., 2012; Smeti et al., 2015). El primero en reportar el beneficio potencial de los aceites esenciales en la fermentación microbiana ruminal fue Bochers (1965).

La alimentación con ajo (*Allium sativum*) mostró efectos positivos en la utilización de piensos, la actividad antimicrobiana y el rendimiento de los rumiantes (Yang and He, 2016) El aceite de ajo contiene varios compuestos activos, incluyendo compuestos de organosulfuro, enzimas, esteroides, esteroides, glucósidos triterpenoides, flavonoides, fenoles y compuestos de organoselenio (Lawson, 1996). La alimentación con el aceite de ajo a los rumiantes resultó en una fermentación ruminal alterada como la reducción de la concentración de ácidos grasos de cadena corta y la proporción de acetato, y aumentó las proporciones de propionato y butirato, con inhibición de la producción de metano (CH₄) (Busquet et al., 2005; Mirzaei-Aghsaghali y Maheri-Sis, 2011) El modo de acción del aceite de ajo no está claro hasta ahora; sin embargo, su actividad antimicrobiana se relaciona principalmente con los componentes activos en aceite de ajo (es decir,

compuestos de organosulfuro) que causaron proporciones reducidas de CH₄, revelando su papel en la modulación microbiana ruminal (Busquet et al., 2005).

2. Revisión Bibliográfica

2.1 Valor nutritivo del bagazo de caña y rastrojo de sorgo

Rastrojo de sorgo

Composición nutricional	Unidad	Cantidad
Materia seca	%	85,00
NDT	%	39,00
Energía digestible	Mcal/kg	1,75
Energía metabolizable	Mcal/kg	1,37
Proteína (TCO)	%	4,20
Calcio (TCO)	%	0,36
Fósforo total (TCO)	%	0,17
Grasa (TCO)	%	1,90
Ceniza (TCO)	%	10,20
Fibra (TCO)	%	31,00

Fuente: http://mundo-pecuario.com/tema61/nutrientes_para_rumiantes/sorgo_rastrojo-532.html

Bagazo de caña

Composición nutricional	Unidad	Cantidad
Materia seca	%	50,00
NDT	%	x
Energía digestible	Mcal/kg	x
Energía metabolizable	Mcal/kg	0,50
Proteína (TCO)	%	0,75
Calcio (TCO)	%	0,02
Fósforo total (TCO)	%	0,01
Grasa (TCO)	%	x
Ceniza (TCO)	%	x
Fibra (TCO)	%	22,00

Fuente: http://mundo-pecuario.com/tema61/nutrientes_para_rumiantes/cana_azucar_bagazo-522.html

2.2 Definición, uso y beneficio de los aceites esenciales.

Un aceite esencial se define como la sustancia volátil con aroma, olor y sabor que se obtiene de plantas, a partir de un proceso físico. En general, son compuestos químicos aromáticos volátiles, que usualmente se producen y almacenan en los canales secretores de las plantas y que les sirven para protegerse de predadores (Angioni et al., 2006; Calsamiglia et al., 2007).

Los aceites esenciales se han implementado en las dietas de los rumiantes gracias a que tienen propiedades capaces de modificar la fermentación ruminal, aprovechando mejor los nutrientes de los alimentos y así mejorando la eficiencia de la producción de leche y carne en pequeños y grandes rumiantes y obteniendo mejores conversiones alimenticias, así como la reducción o inhibición de la metalogénesis en el rumen (Giannenas et al., 2011; Tager y Krause, 2011).

Alguno de los beneficios que tiene el uso de aceites esenciales en la alimentación animal son sus propiedades antimicrobianas, antioxidantes, antiparasitarias, antiinflamatorias, antidiarreicas y antimicóticas. También se ha observado que los aceites esenciales mejoran la conversión alimenticia, estimulan enzimas digestivas y mejoran la palatabilidad de los alimentos (Windisch et al., 2008; Bentancourt et al., 2012; Shiva et al., 2012).

2.2.1 Uso del ajo como aceite esencial

La alimentación con ajo (*Allium sativum*) mostró efectos positivos en la utilización de piensos, la actividad antimicrobiana y el rendimiento de los rumiantes. El aceite de ajo contiene varios compuestos activos, incluyendo compuestos de organosulfuro, enzimas, esteroides, esteroides, glucósidos triterpenoides, flavonoides, fenoles y compuestos de organoselenio (Lawson, 1996). La alimentación con el aceite de ajo a los rumiantes resultó en una fermentación

ruminal alterada como la reducción de la concentración de ácidos grasos de cadena corta y la proporción de acetato, y aumentó las proporciones de propionato y butirato, con inhibición de la producción de metano (CH₄) (Busquet et al., 2005) El modo de acción del aceite de ajo no está claro hasta ahora; sin embargo, su actividad antimicrobiana se relaciona principalmente con los componentes activos en aceite de ajo (es decir, compuestos de organosulfuro) que causaron proporciones reducidas de CH₄, revelando su papel en la modulación microbiana ruminal (Busquet et al., 2005).

2.3. Anatomía y fisiología del aparato digestivo de los rumiantes

2.3.1 Boca

La primera porción del conducto alimenticio está formado por la boca, que contiene la lengua y dientes, la lengua de los rumiantes es especialmente larga y está cubierta por distintos tipos de papilas, lo que la hace áspera y la convierte en el primer órgano de aprehensión, es decir, que atrae al alimento hacia su boca rodeándolo con la lengua. Carecen de caninos e incisivos superiores siendo reemplazados por una almohadilla carnosa, así que corta el pasto con un movimiento de cabeza. (Sisson et al., 1985).

2.3.2. Saliva y esófago

La saliva posee distintos tipos de glándulas (molares, bucales, sublingual, palatinas, parótidas, submaxilar, labial, faríngea) pero se pueden clasificar según el tipo de secreción en mucígenas y alcalígenas.

Mucilaginosas: su función es humedecer el bolo y facilitar la masticación y la deglución.

Alcalígenas: están formadas especialmente por carbonatos, bicarbonatos y fosfatos, mantiene el pH del rumen en rango cercano a la neutralidad para evitar la acidez estomacal.

El bolo deglutido junto con la saliva baja a través del esófago hasta el estómago, el esófago es un órgano tubular que une a la faringe con el estómago, su longitud puede variar de los 90 cm al 1.05 metros y su diámetro entre 5 y 7 cm. (Sisson et al., 1985)

2.3.3. Rumen y retículo

En los rumiantes el estómago se encuentra dividido en cuatro compartimentos denominados rumen, retículo, omaso y abomaso, también conocidos como rumen, redcilla, librillo y cuajar. El rumen es el de mayor volumen con una capacidad que puede llegar a más de 200 litros en bovinos y está formado por una membrana mucosa recubierto por un epitelio escamoso, estratificado y cornificado que presenta papilas, en su interior presenta pliegues que los dividen en cinco sacos (dorsal, anterior, ventral, ciego dorsal y ciego ventral).

El retículo presenta papilas, lo que le da una apariencia rugosa, estas papilas se encuentran en mayor número en los sacos dorsal y ventral lo que hace que la zona de absorción sea mayor, el retículo no tiene capacidad secretora (Van Soest, 1982).

El rumen y el retículo están separados por el pliegue rumino-reticular, la mucosa de esta estructura se caracteriza por formar pliegues de 1 cm de altura aproximadamente que dan origen a celdas poligonales en forma de panal. En la porción superior derecha se abre el cardias que es por donde entran los alimentos, en la misma región se encuentra la gotera esofágica que es una canal formado por

dos pliegues que le permite cerrarse y conducir alimentos líquidos desde el esófago directamente al abomaso sin pasar por el rumen. Este reflejo se manifiesta en terneros lactantes pero lo pierden luego del destete, esta gotera desemboca en el orificio retículo omasal que es el que une al retículo con el omaso. (Orskov, 1990).

2.3.4. Omaso y Abomaso

El omaso se caracteriza por sus pliegues que dan la apariencia de las hojas de un libro, cubiertas de papilas corneas, aquí se produce la absorción de líquidos, el exceso de carga acida, osmótica, acuosa o amoniacal, con el fin de que el alimento llegue más concentrado al abomaso y no se diluyan las enzimas, además de protegerlo. (Asocras, 2000)

El abomaso es semejante al estómago de los monogástricos pero con más forma de tubo, aquí se tapan las proteínas por la segregación de ácido clorhídrico y pepsina, también se digieren las bacterias y protozoarios formados en el rumen y su pH oscila entre 2 y 3, que es la acidez óptima para que la pepsina actúe. (Sisson, 1985).

2.4. Fermentación ruminal

El rumen funciona como una cámara de fermentación anaeróbica, la población microbiana se obtiene al ingerir alimentos con regularidad, eliminando los ácidos producidos y desechando los residuos no digeribles y manteniendo condiciones óptimas de pH, temperatura y humedad para el crecimiento microbiano, así como los microorganismos dependen del rumiante, el rumiante depende de los productos de fermentación anaeróbica de los alimentos fibrosos y de la actividad biosintética microbiana para cubrir necesidades nutritivas propias (Yokohama y Johnson, 1988). Aunque no todos los productos de la fermentación microbiana son útiles para el rumiante, el metabolismo está enfocado en aprovechar productos

como los ácidos grasos volátiles (AGV). El metano suele ser inútil para el rumiante, y los nitratos y el amoníaco incluso son nocivos para él. (Owens y Goetsch, 1986).

2.5 Microorganismos del rumen

El proceso por el cual es regulado el sistema microbiano ruminal es mediante complejos mecanismos bioquímicos. En el rumen existen dos fases:

Fase gaseosa: es donde podemos encontrar metano (CH₄) y CO₂.

Fase acuosa: tiene dos estratos, el estrato ventral (90% agua y 10 % MS) aquí se encuentran las partículas de alimento de mayor densidad y de forraje con más de 12 horas de digestión. Con microorganismos anaerobios estrictos y en menor porcentaje anaerobios facultativos. El estrato superior (80% agua 20%MS) conformado por un manto de forraje de baja densidad, por lo tanto los estratos son diferentes tanto en composición como en actividad microbiana. Las bacterias forman la mayor parte de estos microorganismos, con un máximo del 40% de protozoarios y menos de 8% de hongos.

Según Cheng y Costerton (1980) los microorganismos del rumen pueden ser clasificados en tres grupos:

- I.- los microorganismos que se adhieren a la pared del rumen.
- II.- los microorganismos que viven libremente.
- III.- los microorganismos que están adheridos a las partículas del alimento.

Los microorganismos que están adheridos a las partículas del alimento representan el 75% del total de los microorganismos ruminales y son los que presentan mayores ventajas, ya que los otros pueden ser removidos del rumen más rápidamente por el flujo de la ingesta.

Para que los microorganismos alcancen una actividad microbiana óptima, deben disponer de sustratos necesarios para su mantenimiento y crecimiento. En ausencia de energía fermentable y algunos otros nutrientes exógenos, el 60% de las bacterias ruminales podrían morir en un lapso de 2 horas y otro 30% podría lisiarse por la inanición. (Hespell, 1979)

2.5.1 Bacterias

Cada mililitro de contenido ruminal alberga alrededor de 10 000 a 50 000 millones de bacterias. Las bacterias se encuentran en una gran variedad de géneros y especies por lo menos 28 especies funcionalmente importantes, las cuales se agrupan de acuerdo a su actividad.

Algunos de los principales grupos de bacterias, de acuerdo con el sustrato utilizado, son los siguientes:

Celulolíticas: *Bacteroides ruminicola*, *Butyrivibrio fibrisolvens*, *Fibrobacter succinogenes*, *Ruminococcus flavefaciens*, *R. albus*.

Hemicelulolíticas: *Butyrivibrio fibrisolvens*, *Fibrobacter succinogenes*, *Ruminococcus flavefaciens*, *R. albus*.

Amilolíticas: *Bacteroides amylophilus*, *B. ruminicola*, *Streptococcus bovis*, *Succinomonas amilolítica*.

Proteolíticas: *Bacteroides amylophilus*, *B. ruminicola*, *Butyrivibrio fibrisolvens*, *Streptococcus bovis*

Pectina: *B. fibrisolvens* y *Lachnospira multiparus* y varios protozoarios.

2.5.2. Hongos

Algunos de los hongos anaerobios que existen en el rumen son: *Neocallimastix frontalis*, *Sphaeromonas communis*, *Piromonas communis*, *Orómpinomyces*. Se cree que la población de hongos del rumen está relacionada con la dieta, pues a mayor contenido de fibra, existe una mayor población de hongos anaerobios en cambio su proporción disminuye con dietas ricas en almidón o azúcares solubles (Grenet et al., 1989).

Aunque los hongos parece que no tienen capacidad enzimática de hidrolizar pectina, si la tienen con la celulosa y el xilano (Fronti et al., 1991). La actividad enzimática es variable ante estos substratos y esto se debe a su origen filogenético, en especial de su estructura rizoidal, pero se ha postulado que algunas especies tales como *Neocallimastix frontalis*, *Piromyces comunis* y *Orpinomyces joyoni* son igual o mejores en la digestión de polisacáridos estructurales como las especies bacterianas más celulolíticas (Bauchop, 1989).

2.5.3. Protozoos

Hay menos protozoos que bacterias habitando el rumen, pero aunque en número son menos los protozoos tienen mayor volumen individual dando lugar a una masa celular de protozoarios parecida a la masa de las bacterias.

Podemos encontrar dos tipos de protozoos en el rumen, los ciliados y los flagelados.

Los ciliados pertenecen a dos órdenes fundamentales:

- 1) Orden *Trichostomatida*, Familia *Isotrichidae*, Géneros *Isotricha*, *Dasytricha*, *Oligoisotricha*, y predominan cuando la dieta es alta en almidón (grano).
- 2) Orden *Entodinomorphida* (cilios cerca del peristomo u orificio bucal; ingieren bacterias principalmente), Familia *Ophryoscolecidae*.

Los protozoarios flagelados utilizan azúcares simples y bacterias como substratos: *Monocercomonas ruminantium*, *M. bovis*, *M. caprae*, *Trichomonas ruminantium*, *Tetratrichomonas ruminantium*.

El efecto de los protozoos en la digestión de la fibra vegetal depende de la importancia de los distintos géneros y especies en el ecosistema ruminal. (Jouany et al., 1994)

2.5.4. Virus

La principal función de los virus (bacteriófagos) es disminuir la concentración y actividad de bacterias ruminales, encontrados principalmente en *Bacteroides*, *Butyrivibrio*, *Eubacteria*, *Prevotella*, *Ruminococcus*, *Selenomonas*, *Streptococcus*.

2.6 Impacto de la dieta sobre las poblaciones microbianas.

Lo que más influye sobre el tipo y las proporciones de las poblaciones microbianas es la dieta, esta determina el perfil de fermentación ruminal (Yokohama y Johnson, 1988). Hay una gran diferencia entre dietas forrajeras y dietas ricas en concentrado. Las dietas forrajeras favorecen el crecimiento de flora fibrolítica donde las bacterias predominantes son las del genero *Butyrivibrio* spp. En cambio las dietas de concentrados con bajos contenidos en fibra la población bacteriana es mayor predominando las del tipo *Selenomonas* , *Peptostreptococci* y *Lactobacilli* (McAllister et al.,1993). Este tipo de dietas suelen ser de rápida digestión y de producción de ácidos, por lo que el medio se acidifica y las poblaciones celulolíticas y metagonogénicas se reducen por su sensibilidad al pH ácido (Van Soest, 1982). Cuando existe un cambio en la dieta, la población tiene que adaptarse y equilibrarse, aunque existe mayor riesgo cuando hablamos de la introducción de grandes cantidades de concentrado en animales que llevan una dieta forrajera, por las bacterias que producen y utilizan el lactato. De primera estancia y debido a la disminución del pH, las bacterias utilizadoras del lactato

desaparecen y las aminolíticas son sustituidas por otras bacterias productoras de lactato, lo que causa un descenso de pH peor y una acidosis láctica. Pero cuando vuelven a adaptarse, las poblaciones formadoras de lactato y las que lo utilizan se equilibran y ya casi no se detecta ácido láctico en el contenido ruminal. (Orpin, 1983).

2.7. Degradación de los carbohidratos

Los carbohidratos son los componentes más importantes en la dieta de los rumiantes y la principal fuente de energía de los microorganismos ruminales (Hungate, 1966) y también se encargan de mantener en óptimo funcionamiento al rumen. Desde el punto de vista estructural los carbohidratos se dividen en dos: estructurales y no estructurales. Los estructurales forman parte de la pared celular e incluyen celulosa, hemicelulosa y pectina y los no estructurales no forman parte de la estructura vegetal y son azúcares simples, reservas de hidratos de carbono y ácidos orgánicos. Aunque hablando más enfocado a la nutrición, se pueden dividir en dos: fibrosos (corresponden a la fibra neutro detergente (FDN) (Van Soest, 1982) y no fibrosos. Solo existen dos diferencias entre estas dos clasificaciones: la pectina que siendo un carbohidrato estructural no está incluido dentro de la FDN en el análisis de Van Soest y la lignina que aunque no es un carbohidrato se encuentra íntimamente ligado a la pared celular y se incluye dentro de la fracción de la FDN.

Carbohidratos	Composición
No fibrosos	
Azúcares solubles	Mono y di-sacáridos
Carbohidratos de reserva	
Almidón	Polímero de glucosa unidas por enlaces α 1-4, α 1-6
Fructosanos	Polímero de fructosa
Levanos	Enlaces β 2-6 (forrajes verdes y granos de cereal)
Inulinas	Enlaces β 2-1 (tubérculos)
Pectinas	Ácido galacturónico, arabinosa, galactosa
Ácidos orgánicos	Productos de fermentación de otros carbohidratos (ensilados)
Fibrosos	
Celulosa	Polímero de glucosa unidas por enlaces β 1-4
Hemicelulosa	Xilanos, glucosa, arabinosa, manosa, galactosa, ácido galacturónico
Lignina	Polímero fenólico unidos por enlaces cruzados muy complejos

Los carbohidratos no fibrosos aportan energía a los microorganismos y al animal pues fermentan rápidamente, pero también aumentan el riesgo de una acidosis ruminal, en cambio, los carbohidratos fibrosos estimulan más la rumia, son más resistentes a la degradación y aumenta la producción de saliva lo que actúa como tapón ruminal, aunque tienen una menor aportación energética y puede limitar la ingestión. La capacidad microbiana que tienen los carbohidratos fibrosos para degradarlos es lo que hace muy beneficiosa la simbiosis con los microorganismos ruminales ya que las enzimas propias de los rumiantes no los pueden digerir (Orskov y Ryle, 1998).

El proceso de la degradación comienza por la adhesión de los microorganismos a la pared celular y deben asociarse a la parte más indigestible para asegurar su permanencia por más tiempo en el rumen. Esta adhesión puede ser por uniones específicas con adhesinas (moléculas de la superficie microbiana que se une a receptores de material vegetal) o inespecíficas como enlaces iónicos. Una vez adheridos las bacterias, los hongos y los protozoos comienza la degradación enzimática que consta de dos etapas, en la primera etapa los polisacáridos

complejos son hidrolizados hasta oligosacáridos de cadena corta (celobiosa, maltosa y xilobiosa) y azúcares sencillos mediante celulasas y hemicelulasas. En la segunda etapa los monosacáridos son metabolizados hasta piruvato y finalmente hasta AGV, siendo el acetato el producto final más importante de la degradación de los carbohidratos fibrosos.

2.8 Ácidos Grasos Volátiles (AGV)

Los AGV representan más del 70% del suministro de energía del rumiante. Tanto el ácido acético, propiónico y butírico son absorbidos por el epitelio del rumen y transportados vía porta al hígado. La absorción de los AGV es muy importante tanto para mantener su distribución en las células animales pero principalmente para prevenir cantidades excesivas que puedan alterar el pH ruminal (Nava, 2001).

Los AGV absorbidos tienen diferentes destinos metabólicos. (Nava, 2001).

- + El ácido acético se oxida en los diferentes tejidos para generar ATP. También funciona como la principal fuente acetil-CoA para la síntesis de lípidos corporales de reserva y de la grasa de la leche.

- +El “ácido propiónico” es el único de los AGVs que el hígado puede transformar en glucosa, en la vía de la gluconeogénesis. De esta manera, las moléculas de glucosa sintetizadas en este proceso serán exportadas hacia los tejidos corporales (principalmente el nervioso, el cardíaco y el sanguíneo), quienes serán los encargados de utilizarla como fuente de energía para la síntesis de ATP. Además, la glucosa es utilizada para la formación de glucógeno (reserva de energía) en los músculos y para la síntesis de la lactosa de la leche.

+ El ácido butírico absorbido en forma de ácido β -hidroxibutírico, es oxidado en muchos tejidos para la producción de energía.

2.9 El uso de aceites esenciales en dietas para rumiantes.

Los aceites esenciales se han usado principalmente para el tratamiento y prevención de algunas enfermedades en los animales (Daza et al., 2001), en los últimos años se ha tomado como una alternativa en la nutrición de algunos animales como aves (pollos de engorda principalmente), cerdos, rumiantes (Mitsch et al., 2004) y peces (Tongnuanchan et al., 2013).

Los aceites esenciales tienen la capacidad de modificar la fermentación ruminal, haciendo más aprovechables los nutrientes de los alimentos, mejorando la producción de leche y carne en bovinos, ovinos y caprinos, obteniendo mayores ganancias de peso y mejores conversiones alimenticias (Giannenas et al., 2011), también han sido utilizados para disminuir o inhibir la metanogénesis en el rumen. Se ha reportado que el aceite de tomillo y orégano en dosis altas disminuyó la concentración de metano (Benchaar y Greathead et al., 2011), que el aceite de brezo en el líquido ruminal redujo la población microbiana (bacterias metanogénicas, hongos y protozoarios) debido a la reducción in vitro de la producción de amoníaco, biomasa microbiana y degradabilidad (Talebzadeh et al., 2012)

2.10 Bagazos y rastrojos como fuente de alimento

Los bagazos y rastrojos por lo general contienen un alto porcentaje de fibra, su proteína es muy baja al igual que su digestibilidad, por lo cual la disponibilidad de los nutrientes que contienen es inferior a la requerida, la energía metabolizable es escasa y los nutrientes digeribles totales es inferior al 60%, por lo tanto el valor nutritivo de estos ingredientes no es suficiente para las funciones reproductivas, productivas y de trabajo del ganado, además de que no es muy

posible que los animales puedan mantener su peso corporal y si se usan como única fuente de alimento se presentarían pérdidas considerables de peso y condición corporal del ganado, pero existen aditivos que aumentan los niveles de palatabilidad y digestibilidad de estos materiales.(Ferreiro, 1990)

2.10.1 Bagazo de caña

El bagazo de caña es un subproducto de la industria azucarera que ha sido adaptado a la alimentación del ganado.

Este subproducto fibroso tiene una gran importancia como alimento para los rumiantes, y se ha utilizado en las raciones para los rumiantes desde años atrás, pero por su baja digestibilidad y contenido de nitrógeno limitaron su uso a servir como relleno en concentrados o a administrarlos en muy bajos niveles dentro de las raciones, así el aporte de nutrimentos del bagazo resulta casi insignificante.

2.10.2 Rastrojo de sorgo

El rastrojo de sorgo es una excelente fuente de fibra con una digestibilidad de la materia orgánica de un 51.7% en el tallo y un 49.9% en las hojas y con un contenido de PC de 8.3% en las hojas y un 3.8% en los tallos.

Composición química sobre el heno y rastrojo de sorgo.

Sorgo granífero		Heno	Rastrojo
Materia Seca (%)	Promedio	76.6	33,7
	Máximo	81,6	44,0
	Mínimo	71,6	29,6
Proteína cruda (PC, %)	Promedio	4,16	3,85
	Máximo	4,24	4,1
	Mínimo	4,07	3,6
Energía metabolizable (MCal/kg de MS)	Promedio	1,13	1,88

En donde se observa que el nivel de energía es mayor en el rastrojo en tanto la proteína es similar para ambos.

3. Justificación

Existe una gran cantidad de residuos agrícolas que pueden ser utilizados para la alimentación del ganado, pero por su bajo valor nutricional no es muchas veces considerado como una buena alternativa de alimentación. El rastrojo de sorgo y el bagazo de caña son materiales de bajo costo que se pueden utilizar como parte de la dieta, el uso de aditivos para piensos como los aceites esenciales ofrecen una buena alternativa puesto que aumentan su nivel de digestibilidad, y mejoran la fermentación ruminal.

En este caso presento el aceite de ajo como aditivo.

4. Hipótesis

El aceite de ajo aumentaría la producción de gas durante la fermentación y mejoraría la degradación in vitro de la fibra ruminal, dando como resultado un mayor valor nutritivo tanto del bagazo de caña como del rastrojo de sorgo.

5. Objetivo

Determinar el efecto de incluir aceite de ajo a la producción de gas in vitro y la digestibilidad de los nutrientes del bagazo de caña y del rastrojo de sorgo.

6. Materiales y métodos.

Subproductos agroindustriales como sustratos.

Se utilizaron dos subproductos de forraje, bagazo de caña de azúcar y rastrojo de sorgo. Se seleccionaron cuatro lotes de cada pienso aleatoriamente y se cosecharon en distintos sitios en el Estado de México, México. Las muestras de los sustratos se secaron a 65 ° durante 72 horas en un horno de aire forzado, y luego molido en un molino de Wiley, posteriormente paso por un tamiz de 1mm y se almacenaron en bolsas de plástico para la determinación posterior de la composición química y la incubación in vitro.

Aceite esencial

Se utilizó aceite de ajo comercial como aditivo.

Garlic oil, Chinese

Incubación in vitro.

El líquido ruminal era recolectado por las mañanas antes del primer alimento del día de dos vacas suizas de 450 kg de peso corporal con cánula ruminal permanente, alimentadas ad libitum, una ración mixta total compuesta de concentrado 1:1 y heno de alfalfa para cubrir sus necesidades básicas.(NCR, 2001). Las vacas tenían libre acceso a agua fresca durante todo el experimento.

Posterior a la recolección, el contenido ruminal se lavó con CO₂, se mezcló y filtro a través de cuatro capas de estopilla en un espacio libre de O₂. Después del filtrado el líquido ruminal se llevó inmediatamente al laboratorio donde se mezcló en una proporción de 1:4 (v/v) con solución tampón descrita por Goerin y Van Soest (1970), sin adicionarle tripticasa. Se añadió el líquido ruminal diluido (en donde de los 50 ml que contenía 10 ml eran líquido ruminal) a cada botella de incubación.

Se pesaron 0.5g de MS de alimento en botellas de suero de 120 ml con la adición apropiada de aceite de ajo. El aceite de ajo se incluyó en: 30 mg, 60 mg, 90 mg y 180 mg por litro de medio de incubación (lo equivalente a 0, 1, 2, 3, 6 y 7.2 mg/g de sustrato de DM). Se realizaron tres pruebas de incubación en tres distintas semanas. Las botellas se inocularon dentro de cada ciclo de incubación, tres botellas como blancos (solo contenían fluido ruminal, sin sustrato).

Una vez llenas todas las botellas se cerraron con tapones de goma inmediatamente, se agitaron y se metieron en un baño de agua a 39°C. Se registró el volumen de gas producido a 2, 4, 6, 8, 10, 12, 24 y 48 horas de incubación usando un transductor de presión (Extech Instruments, Waltham, EE. UU.) Siguiendo la técnica de Theodorou et al. (1994).

Pasando 48 horas de incubación, se abrieron las botellas y se midió el pH utilizando un pHmetro (Conductronic pH15, Puebla, México). Se filtró el contenido de cada botella a vacío a través de crisoles de vidrio sinterizado (porosidad gruesa no. 1, tamaño de poro 100 a 160 µm, Pyres, Stone, UK). A continuación los residuos de la incubación fueron secados a 105°C durante toda una noche para estimar la degradabilidad aparente de la DM (DMD)

Una vez secados los residuos se determinó la FDN y la FDA para la estimación de la degradabilidad del FDN y la degradabilidad del FDA. Se usaron espacios blancos para corregir la contaminación del sustrato del líquido ruminal.

7. Análisis químico

Se analizaron muestras del rastrojo de sorgo y bagazo de caña de azúcar para DM (# 934.01), ceniza (# 942.05), nitrógeno (# 954.01) y extracto de éter (# 920.39) usando métodos oficiales de AOAC (1997). Los contenidos de FDN (Van Soest et al., 1991) y ADF (AOAC # 973.18) en los piensos y los residuos de incubación se determinaron usando una Unidad de Analizador de Fibra ANKOM200 (ANKOM Technology Corp., Macedon, NY, EE.UU.). El análisis de FDN se realizó con sulfito de sodio, pero sin α -amilasa. Tanto el FDN como el FDA se expresaron sin cenizas residuales.

8. Análisis estadísticos

El análisis de parámetros de degradabilidad de nutrientes y el diseño experimental para el análisis in vitro del GP ruminal fue totalmente al azar, únicamente se consideraron como factores fijos el tipo de alimento, el aceite esencial y la dosis de aceite en el modelo lineal. Se promediaron los datos de cada una de las tres series de la misma muestra antes del análisis estadístico, utilizando los valores medios de cada muestra individual dentro de cada alimento (tres muestras de cada uno) como unidad experimental.

Los cuatro derivados de los subproductos diferían en su composición química. Las concentraciones de FDN oscilaron entre 459 g para el bagazo de caña de azúcar y 614 g para la paja de sorgo. La concentración de FDA osciló 386 g para la paja de sorgo. Por otro lado, las concentraciones de CP fueron de 27 para el bagazo de caña de azúcar. El bagazo de caña de azúcar contenía el NSC más alto (489 g), mientras que la paja de sorgo contenía la concentración de NSC más baja (261 g) (Tabla 1).

Tabla 1.

Composición química de los alimentos fibrosos (g/kg DM).

	Rastrojo de sorgo	Bagazo de caña de azúcar
Material seca	943	925
Materia organica	930	982
Proteina cruda	43	27
Extracto de éter	12	7
Fibra detergente neutra	614	459

Fibra detergente ácida	386	324
Lignina	71	121
Celulosa	315	203
Hemicelulosa	228	135

Para la paja de sorgo, se observaron interacciones tipo aceite y dosis de aceite ($P < 0,05$) para GP a diferentes horas de incubación, pH de fermentación y degradabilidad de DM, FDN y FDA. Se observaron mayores tasas de GP ($P = 0,031$) y GP a diferentes horas de incubación (efectos lineales y cuadráticos, $P < 0,05$) con la adición de eucalipto y aceites de ajo a diferentes dosis. Se observaron valores de pH inferiores (efecto lineal, $P < 0,001$, efecto cuadrático, $P = 0,006$) y mayores degradabilidades de DM y FDN (efecto lineal, $P < 0,05$) con la adición de aceite de ajo. (tabla 2)

Tabla2.

Cinética in vitro del gas ruminal de la paja de sorgo afectada por la adición de aceite de ajo. (mg/L medio de incubación).

Aceite	Producción de gas a:											Degradabilidad ¹			
	2 h	4 h	6 h	8 h	10 h	12 h	24 h	36 h	48 h	72 h	pH	DM	NDF	ADF	
Control	11	22	32	42	51	60	108	146	176	220	6.81	493	604	397	
Aceite de ajo															
30	23	44	63	82	99	115	193	246	282	324	6.68	783	687	449	
90	27	51	74	95	114	132	215	267	299	332	6.67	601	750	380	
180	17	33	49	64	79	93	166	223	269	333	6.67	640	742	318	
SEM	1.5	2.8	4.0	5.0	5.9	6.6	9.3	9.7	9.2	7.8	0.011	37.6	18.8	12.5	
<i>P</i> valor															
Dosis de aceite															
Lineal	0.005	0.004	0.003	0.003	0.002	0.002	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	0.002	0.010	0.630	
cuadrático	0.104	0.077	0.058	0.042	0.030	0.021	0.001	<0.001	<0.001	<0.001	0.006	0.397	0.100	0.061	

¹ADF, fibra detergente ácido; degradabilidad DM, degradabilidad de materia seca; NDF, degradabilidad de fibra detergente neutro

Para el bagazo de caña de azúcar, se observaron interacciones tipo aceite y dosis de aceite, pH de fermentación y degradabilidad de FDN. Se observaron mayores degradabilidades de la DM (efecto lineal, $P = 0,005$) con la adición de aceite ajo a diferentes dosis (Tabla 3).

Tabla 3

Cinética in vitro del gas ruminal del bagazo de caña de azúcar afectada por la adición de aceite de ajo. (mg/L medio de incubación).

Oil	Producción de gas a:										Degradabilidad ¹			
	2 h	4 h	6 h	8 h	10 h	12 h	24 h	36 h	48 h	72 h	pH	DM	NDF	ADF
Control	11	22	32	42	51	60	110	151	185	237	6.76	477	652	468
Aceite de ajo														
30	29	55	79	100	119	136	208	246	267	283	6.81	580	606	407
90	28	53	77	98	118	136	219	270	301	332	6.73	593	633	420
180	25	48	70	90	108	125	202	250	281	312	6.63	593	602	409
SEM	2.7	5.0	7.0	8.7	10.2	11.5	16.5	18.8	19.9	20.7	0.0	22.5	21.3	13.6
<i>P</i> valor														
Dosis de aceite														
Lineal	0.006	0.005	0.005	0.005	0.005	0.006	0.001	0.003	0.009	0.047	0.924	0.005	0.993	0.064
cuadrático	0.566	0.540	0.511	0.485	0.457	0.435	0.312	0.232	0.182	0.125	0.587	0.050	0.845	0.515

¹ADF, fibra detergente ácido; degradabilidad DM, degradabilidad de material seca; NDF, degradabilidad de fibra detergente neutro

9. Cinética de producción de gas.

El aceite de ajo no afectó al GP Asintótico de la paja de sorgo y el bagazo de caña de azúcar. Las diferentes cinéticas de fermentación se deben principalmente a la diferente composición química de los sustratos incubados (Elghandour et al., 2015, Kholif et al., 2017). Se esperaba que el aumento de las dosis de aceite de ajo causaría efectos perjudiciales sobre la fermentación ruminal y la digestibilidad de los nutrientes debido a la actividad antimicrobiana atribuida a los compuestos de azufre, particularmente la alicina. Esto revela que los niveles probados de aceites de ajo estaban dentro del intervalo aceptable para modificar la cinética de fermentación. Busquet et al. (2005) observó una reducción en la producción de acetato y una reducción de la digestibilidad de FDN cuando se añadió aceite de ajo a 312 mg / L de fluido de cultivo. La fermentación mejorada y GP con dosis crecientes de aceite de ajo puede explicarse basándose en su contenido de un compuesto altamente activo inulina que se considera como un prebiótico, que puede actuar como estimulador de los microorganismos rumánicos que conduce a un mejor ecosistema microbiano.

La inclusión de aceites aumentó las tasas de GP de paja de sorgo y bagazo de caña de azúcar lo que indica el gran efecto de la composición química de los

sustratos incubados. Una mayor proporción de GP con la inclusión de los aceites puede estar relacionada con la capacidad de los compuestos activos de ajo para la actividad antioxidante y su capacidad para eliminar los radicales libres del medio de fermentación, haciendo la condición de fermentación más apropiada para la actividad microbiana. Los compuestos activos presentados en el aceite de ajo (por ejemplo, disulfuro de alilo, alicina, alicina y alilcisteína) indican diferentes patrones de antioxidantes como protectores compuestos contra el radical libre. (Elaissi et al., 2012).

10. Resultados

ARTICULO CIENTÍFICO

Abstract

The effects of garlic oil on the ruminal fermentation of two agro industrial by-products (sorghum straw and sugarcane bagasse) were studied using the *in vitro* gas (GP) production technique. Garlic oil was added at a rate of 0, 30, 90 and 180 mg / L of incubation medium (equal to 0, 1.2, 3, 6 and 7.2 mg / g DM substrate). The gas volumes were recorded at 2, 4, 6, 8, 10, 12, 24, 36, 48 and 72 h of incubation and the DM degradabilities of substrate, fiber in neutral detergent (NDF) and acid detergent fiber (ADF) were determined at 72 ° C incubation. The garlic oil did not affect the asymptotic GP of the sorghum straw and the bagasse of sugarcane. In addition, the inclusion of oil increased ($P < 0.05$) the GP rates of sorghum straw and sugarcane bagasse. Garlic oil decreased the fermentation pH ($p < 0.05$) of the sorghum straw. The inclusion of garlic oil increased ($P < 0.05$) the DM degradability of sorghum straw and sugarcane bagasse. Garlic oil increased the NDF degradabilities of the two feeds. It can be concluded that the application of garlic oil positively affected the ruminal fermentation of the two agro industrial by-products as fodder. Increase the dose of oil inclusion, improved the fermentation parameters; where the dose of 180 mg of oil / L increased GP, while the doses of 30 and 90 mg of oil / L increased the digestion of nutrients.

Keywords: degradability, fibrous food, garlic oil, gas production.

10.1 Introduction

The livestock industry suffers an increase in the cost of grains and the quality of the forage. At the same time, there are large amounts of crop residues and by-products associated with crop production in the field. Such residues can have important economic and environmental impacts as in the diet of ruminants after improving their nutritional value (Kholif et al., 2014; Elghandour et al., 2016). Sorghum straw and bagasse from sugarcane have a poor nutritional value as animal feed because of their low nitrogen content and high fiber content (Abdel-Aziz et al., 2015; Elghandour et al., 2016). In general, the use of raw fibrous residues as animal feed within the farm is limited due to its high fiber content, low crude protein (CP) content, poor palatability and low nutrient digestion (Khattab et al., 2013; Togtokhbayar et al., 2015) that invariably decreases the efficiency of digestive use (Khattab et al., 2013; Rojo et al., 2015). Therefore, and for a better use as food for ruminants, it is very important to improve the nutritional value of these foods before feeding the animals, using different strategies. One of the most effective and safe strategies is the use of feed additives, including essential and crude oils (Hernandez et al., 2017).

Experiments suggest that some crude and essential oils have appetite stimulating properties, antibacterial effects and antioxidant functions (Bodas et al., 2012; Smeti et al., 2015). It has been reported that crude oils and essential oils improved feed utilization due to their ability to alter ruminal fermentation and increase dietary digestibility (Bodas et al., 2012).

Feeding with garlic (*Allium sativum*) showed positive effects in feed utilization, antimicrobial activity and ruminant performance (Yang and He, 2016). Garlic oil contains several active compounds, including organosulfide compounds, enzymes, sterols, steroids, triterpenoid glycosides, flavonoids, phenols and organoselenium compounds (Lawson, 1996). Feeding garlic oil to ruminants resulted in altered ruminal fermentation such as reducing the concentration of short chain fatty acids

and the proportion of acetate, and increased proportions of propionate and butyrate, with inhibition of methane production (CH_4) (Busquet et al., 2005; Mirzaei-Aghsaghali and Maheri-Sis, 2011). The mode of action of garlic oil is not clear until now; however, its antimicrobial activity is mainly related to the active components in garlic oil (that is, organosulfide compounds) that caused reduced proportions of CH_4 , revealing their role in ruminal microbial modulation (Busquet et al., 2005).

Our hypothesis was that garlic oil, with its active compounds, would improve the *in vitro* degradation of the ruminal fiber and increase gas production during fermentation, resulting in a higher nutritional value and in the use of feed of the agro-industrial byproducts studied. Therefore, the objective of the present study was to determine the effect of including garlic oil in *in vitro* gas production and the digestibility of the nutrients of two fibrous byproducts.

10.2. Materials and methods

10.2.1. Agro industrial by-products as substrates

Two by-products of forage were used as substrate for incubation, namely sorghum straw and sugarcane bagasse. Four lots of each feed were selected randomly and manually harvested from different sites in the State of Mexico, Mexico. Samples of the substrates were dried at 65 ° C for 72 h in a forced air oven, and then milled in a Wiley mill to pass a 1 mm sieve and stored in plastic bags for the subsequent determination of the chemical composition and *in vitro* incubation. The chemical composition of fibrous feeds is shown in Table 1.

10.2.2. *In vitro* incubations

The ruminal inoculum was collected before morning feeding from two brown Swiss cows, and fed ad libitum, a total mixed ration consisting of 1: 1 concentrate and hay of alfalfa formulated to meet your nutrient needs(NRC 2001) with full access to fresh water. The cows had free access to fresh water at all times during the experiment. Just after harvesting, the ruminal content obtained from the donor sheep was washed with CO₂, mixed and filtered through four layers of cheese cloth in a flask with O₂-free space. The filtered rumen fluid was immediately transported to the laboratory where it was mixed in a ratio of 1: 4 (v / v) with the buffer solution described by Goering and Van Soest (1970), without addition of trypticase. Diluted rumen fluid (50 ml containing 10 ml of rumen fluid) was added to each incubation bottle.

Food samples (0.5 g DM) were weighed into 120 ml serum bottles with appropriate addition of oil. Garlic oil was included in (per liter of incubation medium): 30 mg, 60 mg, 90 mg and 180 mg (equal to 0, 1.2, 3.6 and 7.2 mg / g DM substrate). Three

incubation tests were performed in three different weeks. The bottles were inoculated within each incubation cycle, three bottles as white (i.e, only ruminal fluid, without substrate). After filling all the bottles, they were immediately closed with rubber stoppers, shaken and placed in a 39 ° C water bath. The volume of gas produced was recorded at 2, 4, 6, 8, 10, 12, 24 and 48 h of incubation using a pressure transducer (Extech Instruments, Waltham, USA) following the technique of Theodorou et al. (1994).

After 48 h of incubation, the bottles were opened, and the pH was measured using a pH meter (Conductronic pH15, Puebla, Mexico). The content of each bottle was filtered under vacuum through sintered glass crucibles (coarse porosity No. 1, pore size 100 to 160 µm, Pyrex, Stone, UK). The incubation residues were then dried at 105 ° C overnight to estimate the apparent degradability of DM (DMD). In the dried residues the NDF and ADF were determined for the estimation of the NDF degradability and the degradability of the ADF. White spaces were used to correct the contamination of the ruminal fluid substrate.

10.2.3. Chemical analysis

Samples of feed for DM (# 934.01), ash (# 942.05), nitrogen (# 954.01) and ether extract (# 920.39) were analyzed using official AOAC methods (1997). The contents of NDF (Van Soest et al., 1991) and ADF (AOAC # 973.18) in feed and incubation residues were determined using an ANKOM200 Fiber Analyzer Unit (ANKOM Technology Corp., Macedon, NY, USA). UU.). The NDF analysis was performed with sodium sulfite, but without α -amylase. Both the NDF and the ADF were expressed without residual ash.

10.2.4. Calculations and statistical analysis

To estimate GP kinetic parameters, the registered gas volumes (ml / g DM) were adjusted by the SAS NLIN procedure (2004) according to France et al. (2000) model as:

$$y = A \times [1 - e^{-c(t-Lag)}]$$

Where y is the volume of GP at time t (h); A is the asymptotic GP (ml / g DM); c is the fractional fermentation rate (/ h), and Lag (h) is the discrete delay time before any gas is released.

The experimental design for the *in vitro* analysis of ruminal GP and the analysis of nutrient degradability parameters was a completely randomized design considering as fixed factors the type of food and the oil dose in the linear model (Steel et al., 1997). The data from each of the three series within the same sample were averaged before the statistical analysis. The mean values of each individual sample within each food (three samples of each) were used as an experimental unit (Udén et al., 2012). Linear and quadratic polynomial contrasts were used to examine feed responses at increasing levels of the enzyme preparation.

10.3. Results

10.3.1. Chemical composition of the by-products and oils of the agribusiness

The two derivatives of the by-products differed in their chemical composition. NDF concentrations ranged from 459 g for sugarcane bagasse to 614 g for sorghum straw. The concentration of ADF ranged between 386 g for sorghum straw. On the other hand, the concentration of CP was 27 g for the bagasse of sugar cane. The sugar cane bagasse contained the highest NSC (489 g), while the sorghum straw contained the lowest NSC concentration (261 g) (Table 1).

Table 1.

Chemical composition of the fibrous feeds (g/kg DM).

	Sorghum straw	Sugarcane bagasse
Dry matter	943	925
Organic matter	930	982
Crude protein	43	27
Ether extract	12	7
Neutral detergent fiber	614	459
Acid detergent fiber	386	324
Lignin	71	121
Cellulose	315	203
Hemicellulose	228	135

10.3.2. Production and degradability of gas

For sorghum straw, interactions were observed per oil dose ($P < 0.05$) for GP at different incubation hours, fermentation pH and degradability of DM, NDF and ADF. The rate of GP ($P = 0.028$), GP at different incubation hours. Higher rates of GP ($P = 0.031$) and GP at different incubation hours (linear and quadratic effects, $P < 0.05$) were observed with the addition of garlic oil at different doses. Lower pH values were observed (linear effect, $P < 0.001$, quadratic effect, $P = 0.006$) and higher DM and NDF degradabilities (linear effect, $P < 0.05$) with the addition of garlic oil (Table 2).

Table 2.

⊕ **In vitro rumen gas kinetics of sorghum straw as affected by the addition of garlic and eucalyptus essential oils (mg/L incubation medium).**

Oil	Gas production at:										Degradability ¹			
	2 h	4 h	6 h	8 h	10 h	12 h	24 h	36 h	48 h	72 h	pH	DM	NDF	ADF
Control	11	22	32	42	51	60	108	146	176	220	6.81	493	604	397
Garlic oil														
30	23	44	63	82	99	115	193	246	282	324	6.68	783	687	449
90	27	51	74	95	114	132	215	267	299	332	6.67	601	750	380
180	17	33	49	64	79	93	166	223	269	333	6.67	640	742	318
SEM	1.5	2.8	4.0	5.0	5.9	6.6	9.3	9.7	9.2	7.8	0.011	37.6	18.8	12.5
<i>P</i> value														
Oil dose														
Linea	0.005	0.004	0.003	0.003	0.002	0.002	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	0.002	0.010	0.630
r														
Quad	0.104	0.077	0.058	0.042	0.030	0.021	0.001	<0.001	<0.001	<0.001	0.006	0.397	0.100	0.061
ratic														

¹ADF, acid detergent fiber; degradability DM, dry matter degradability; NDF, neutral detergent fiber degradability

For the sugarcane bagasse, interactions were observed per oil dose for the asymptotic GP, fermentation pH and NDF degradability. The GP rate, the delay time of gas formation, GP at different hours of incubation. Without affecting the asymptotic GP and the time delay of gas formation, higher rates of GP (linear effect, $P = 0.004$) and GP at different hours of incubation were observed with the addition of garlic oil. In addition, greater DM degradabilities were observed (linear effect, $P = 0.005$) with the addition of garlic oil at different doses (Table 3).

Table 3.

⊕ **In vitro rumen gas kinetics of sugarcane bagasse as affected by the addition of garlic essential oils (mg/L incubation medium).**

Oil	Gas production at:										Degradability ¹			
	2 h	4 h	6 h	8 h	10 h	12 h	24 h	36 h	48 h	72 h	pH	DM	NDF	ADF
Control	11	22	32	42	51	60	110	151	185	237	6.76	477	652	468
Garlic oil														
30	29	55	79	100	119	136	208	246	267	283	6.81	580	606	407
90	28	53	77	98	118	136	219	270	301	332	6.73	593	633	420
180	25	48	70	90	108	125	202	250	281	312	6.63	593	602	409
SEM	2.7	5.0	7.0	8.7	10.2	11.5	16.5	18.8	19.9	20.7	0.0	22.5	21.3	13.6
<i>P</i> value														
Oil dose														
Linea	0.006	0.005	0.005	0.005	0.005	0.006	0.001	0.003	0.009	0.047	0.924	0.005	0.993	0.064
r														
Quad	0.566	0.540	0.511	0.485	0.457	0.435	0.312	0.232	0.182	0.125	0.587	0.050	0.845	0.515
ratic														

¹ADF, acid detergent fiber; degradability DM, dry matter degradability; NDF, neutral detergent fiber degradability

10.4. Discussion

The GP technique is a simple, sensitive and powerful detection method for evaluating feed fermentation and testing the efficacy of food additives before *in vivo* evaluation (Getachew et al., 2005). The close relationship between ruminal fermentation and GP has been recognized. Menke et al. (1979) reported a high correlation between GP *in vitro* and apparent digestibility *in vivo*. However, the results and conclusions obtained *in vitro* are not always representative of what occurs *in vivo* due to different conditions, including lack of nutrient absorption, differences in fluid and particle dilution rates, food intake in relation to the volume of the rumen, the homogeneity of the compartment, etc. (Hristov et al., 2012)

10.4.1. Agroindustrial byproducts and oil effects

In the nutrition of ruminants, the inclusion of crude and essential oils can alter microbial populations, digestion and fermentation of diets based on their chemical composition (Bodas et al., 2012). Wide types of essential oils produced by different plant species and that vary in chemical structures, stereochemistry and bioactive activities (Burt, 2004). In the present experiment, the garlic oil was evaluated to determine its effectiveness in affecting the fermentation and GP of two fibrous substrates using the GP technique *in vitro*.

The garlic oil contained phenol, 2-6-bis (1,1-dimethylethyl) -4-methyl (177 mg / g), carbomethoxy carboethoxymethyl disulfide (31 mg / g), butylboronic acid (28 mg / g) and 2-propylheptanol (21 mg / g) as the most dependent compounds. Garlic oil had been reported to have different chemical compounds such as dithyme, allicin, diallyl trisulfide and sallylcysteine; minerals such as Mg, Zn, Se, germanium; amino acids, saponins and flavonoids (Block, 1992, Johnson et al., 2013). Garlic extract has several bioactive properties such as bactericidal, fungicidal, antithrombotic, antitumor and anti-inflammatory properties (Harris et al., 2001, Curtis et al., 2004, Lanzotti, 2006).

The chemical composition of the incubated forages differed, and was quite consistent with that reported in other studies (Elghandour et al., 2016). The variation between the plants in the chemical composition is mainly due to different cultivars and genotypes of the plants, the cultivation environments factors such as climate, soil and agronomic practice, harvest conditions, post harvest and morphological treatments (stems, stems, leaves, straw) of the samples (Welch, 1995). Different chemical compositions of substrates greatly affect fermentation kinetics and parameters (Elghandour et al., 2016, Kholif et al., 2017). In general, the fermentation kinetics seems to be related to the chemical composition, in particular to the fiber content of the substrates (Elghandour et al., 2015, Kholif et al., 2017). Fermentation is generally an index with degradation that produces short chain fatty acids and various gases, mainly CO², hydrogen (H²), CH⁴ and nitrous oxide. Increasing the level of fiber (structural carbohydrates) is parallel with the decrease in the efficiency of fermentation and GP (Elghandour et al., 2016, Kholif et al., 2017). The higher proportions of non-structural carbohydrates in the substrate indicate better nutrient availability for the rumen microorganisms, resulting in the degradability of the stimulated nutrients (Elghandour et al., 2015). On the contrary, a higher fiber content will surprise and negatively affect microbial growth and fermentation (Elghandour et al., 2015, 2016).

10.4.2. Kinetics of gas production.

The garlic oil did not affect the Asymptotic GP of the sorghum straw and the bagasse of sugarcane. The different fermentation kinetics are mainly due to the different chemical composition of the incubated substrates (Elghandour et al., 2015, Kholif et al., 2017). It was expected that increasing doses of garlic oil would cause detrimental effects on ruminal fermentation and nutrient digestibility due to the antimicrobial activity attributed to the sulfur compounds, particularly the allicin (Feldberg et al., 1988) oil of garlic. This reveals that the tested levels of garlic oils were within the acceptable range to modify the fermentation kinetics. Busquet et al. (2005) observed a reduction in acetate production and a reduction in NDF

digestibility when garlic oil was added to 312 mg / L of crop fluid. The improved fermentation and GP with increasing doses of garlic oil can be explained based on their content of a highly active inulin compound that is considered as a prebiotic, which can act as a stimulator of the ruminant microorganisms that leads to a better microbial ecosystem (Kamra et al. al., 2012). Roland et al. (1995) showed that the inulin feed produced a higher production of H^2 without emission of CH^4 , but accompanied by a fourfold increase in the concentration of butyrate.

The inclusion of oils increased the GP rates of sorghum straw and sugar cane bagasse without affecting it with corn stems and oat straw, which indicates the great effect of the chemical composition of the incubated substrates. A higher proportion of GP with the inclusion of garlic oil may be related to the ability of the active compounds of garlic oil for antioxidant activity and its ability to remove free radicals from the fermentation medium, making the fermentation condition more appropriate for microbial activity. The active compounds presented in garlic oil (for example, allyl disulfide, allicin, allicin and allylcysteine) indicate different antioxidant patterns as protective compounds against the free radical (Chung, 2006, Elaissi et al., 2012).

10.4.3. pH of fermentation and nutrient degradability

Garlic oil decreased the fermentation pH of sorghum straw. The forage values ranged from 6.41 to 6.85, which are within the acceptable range for fiber digestion (Ørskov and Ryle, 1990). It is known that the inclusion of oils in the diets of animals decreases the ruminal pH due to the increase of energy density in the diet with the inclusion of oils 15). A lower pH was expected with respect to the control against the probable alteration of the total ruminal fatty acid concentrations that occur with the addition of oil (Busquet et al., 2005). Hernandez et al. (2017) observed that garlic oil at 30, 120, 250 and 500 μL / g of DM substrate decreased the fermentation pH. The linear

decrease in pH with the inclusion of garlic oil was expected since the degradation of MS increased with the inclusion of garlic at different levels.

Lowering the pH fermentation may be responsible for the inconsistency between the current results of improved fermentation kinetics, and the other experiments showed negative effects or weak effects with the inclusion of essential oils in ruminant diets. At low pH, ruminant microorganisms are more susceptible to the effects of essential oils (Skandamis and Nychas, 2000), with a more positive effect due to the inclusion of essential oils in the diet of ruminants (Mirzaei-Aghsaghali and Maheri- Sis, 2011).

Gas production is an indicator of DM digestibility. The increase of DMD and NDFD with garlic supplements suggest a greater availability of energy to the ruminant microorganisms (Yang et al., 2007) resulted in increased GP with garlic oil supplements.

Kongmun et al. (2010) observed that the addition of garlic essential oil increased the ruminal DM and OM digestibility. In addition, Patra et al. (2010) observed greater nutrient digestibility with the feeding of garlic to dairy cows at 1% of food intake. On the contrary, Busquet et al. (2005) observed that garlic oil had no effect on the digestibility of DM, OM, NDF and ADF, suggesting that garlic oil can not modify the general fermentability of the diet. The garlic oil included at 31.2 mg / l of incubation medium, which is a very small amount compared to the doses used in the present experiment.

10.5. Conclusions

The inclusion of garlic oil and improved ruminal fermentation (GP and nutrient degradability) of the two agroindustrial by-products (sorghum straw and sugarcane bagasse) differently depending on the chemical composition of each food. The increase of the garlic oil dose improved the fermentation parameters, with greater

effect with the 180 mg dose of oil / L of the incubation medium. However, additional research should be conducted to establish the effectiveness of garlic oil in in vivo assays.

11. Límite de espacio y tiempo

El Proyecto se llevara a cabo, en el laboratorio de bromatología de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Autónoma del Estado de México, ubicada en el Campus el Cerrillo Piedras Blancas.

El proyecto se realizara el segundo semestre del año 2017.

Carta de aceptación.

From: Journal of Applied Animal Research <onbehalf@manuscriptcentral.com>
To: asalem70@yahoo.com
Sent: Thursday, 15 March 2018, 13:13
Subject: Journal of Applied Animal Research - Manuscript ID JAAR-2018-0098 has been submitted online

15-Mar-2018

Dear Dr Salem:

Your manuscript entitled "Influence of garlic oil on gas production and degradability of sorghum straw and sugarcane bagasse" has been successfully submitted online and is presently being given full consideration for publication in Journal of Applied Animal Research.

Your manuscript ID is JAAR-2018-0098.

Please mention the above manuscript ID in all future correspondence or when calling the office for questions. If there are any changes in your street address or e-mail address, please log in to Manuscript Central at <https://mc.manuscriptcentral.com/aar> and edit your user information as appropriate.

You can also view the status of your manuscript at any time by checking your Author Centre after logging in to <https://mc.manuscriptcentral.com/aar>.

Thank you for submitting your manuscript to Journal of Applied Animal Research.

Sincerely,
Journal of Applied Animal Research Editorial Office

12. Referencias

- Abdel-Aziz NA, Salem AZM, El-Adawy MM, Camacho LM, Kholif AE, Elghandour MMY, Borhami BE. (2015): Biological treatments as a mean to improve feed utilization in agriculture animals-An overview. *Journal of Integrative Agriculture*. 14, 534–543.
- Angioni A, Barra A, Coroneo V, Dessi S, Cabras P (2006) Chemical composition, seasonal variability, and antifungal activity of *Lavandula stoechas* L. ssp. *stoechas* essential oils from stem/leaves and flowers . *J. Agric. Food Chem* 54: 4364-4370
- AOAC. (1997): Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemist, Vol. 1, 16th edn. Washington, D.C., USA: Association of Official Analytical Chemists.
- Asocras, 2000. Digestive Anatomy in Ruminants. Disponible en: <http://www.calfnotes.com>. En línea: Mayo 2001.
- Bauchop, T. 1989. Colonization of plant fragments by protozoa and fungi. En: J.V. Nolan, R.A. Leng, D.I. Demeyer (Eds.). The roles of protozoa and fungi in ruminant digestion. Penambul Books, Armidale. pp.83-96.
- Benchaar C, Greathead H (2011) Essential oils and opportunities to mitigate enteric methane emissions from ruminants. *Anim. Feed. Sci. Tech.* 166: 338-355.
- Betancourt LL, Ariza NC, Díaz GG, Afanador. TG (2012) Efecto de diferentes niveles de aceites esenciales de *Lippia organoideskunth* en pollos de engorde. *MVZ Córdoba*.17: 3033-3040-
- Bodas R, Prieto N, García-González R, Andrés S, Giráldez FJ, López S, (2012): Manipulation of rumen fermentation and methane production with plant secondary metabolites. *Anim. Feed Sci. Technol.* 176, 78-93.
- Borchers, R. 1965. Proteolytic activity of rumen fluid in vitro. *J. Anim. Sci* 24:1033-1038.

- Busquet, M., S. Calsamiglia, A. Ferret, and C. Kamel. 2006. Plant extracts affect in vitro rumen microbial fermentation. *J. Dairy Sci.* 89:761-771.
- Calsamiglia S, Busquet M, Cardozo PW, Castillejos L, Ferret A (2007) Invited review: Essential oils as modifiers of rumen microbial fermentation. *J. Dairy Sci.* 90: 2580-2595.
- Cheng, K.J. y Costerton, J.W. 1980. Adherent rumen bacteria. Their role in the digestion *Digitaria petzii* grown with and without sulfur. *Appl. Env. Microbiol.* 46: 738.
- Daza A, Rodríguez CA, Gálvez JF (2001) Efecto de la adición de aceites esenciales al pienso sobre las variables productivas, digestibilidad y balance de nitrógeno en cerdos en cebo. *Inv. Agr. Prod. San. Anim.* 16: 271-280.
- Elaissi A, Rouis Z, Salem NAB, Mabrouk S, ben Salem Y, Salah KBH, Aouni M, Farhat F, Chemli R, Harzallah-Skhiri F, Khouja ML. (2012): Chemical composition of 8 eucalyptus species' essential oils and the evaluation of their antibacterial, antifungal and antiviral activities. *BMC complementary and alternative medicine*, 12(1), p.1.
- Feldberg, R. S., S. C. Chang, A. N. Kotik, M. Nadler, Z. Neuwirth, D. C. Sundstrom, and N. H. Thompson. 1988. In vitro mechanism of inhibition of bacterial cell growth by allicin. *Antimicrob. Agents Chem.* 32:1763–1768
- Fonty, G and K. N. Joblin. 1991. Rumen anaerobic fungi: their role and interactions with other rumen microorganisms in relation to fiber digestion. pp. 655-679. In: *Physiological aspects of digestion and metabolism in ruminants*. T. Tsuda, Y. Sasaki, R. Kawashima (eds.). Academic Press, San Diego.
- Giannenas I, Skoufos J, Giannakopoulos C, Wiemann M, Gortzi O, Lalas S, Kyriazakis I (2011) Effects of essential oils on milk production, milk composition, and rumen microbiota in Chios dairy ewes. *J. Dairy Sci.* 94: 5569-5577.
- Grenet, E.; A. Breton; P. Barry and P. Fonty. 1989. Rumen anaerobic fungi and plant substrates colonization as affected by diet composition. *Anim. Feed Sci. Technol.*, 26: 55-70.

- Hespell, R.B. 1979. Efficiency of growth by ruminal bacteria. *Feed Proc.* 38: 2702.
- Hungate, R.E. 1966. *The Rumen and its Microbes*. Academy Press Inc., New York.
- Jouany, J.P.; Broudiscou, L.; Pirns, R.A. y Komisarczuk, S. 1995. Métabolisme et nutrition de la population microbienne du rumen. En : *Nutrition des Ruminants Domestiques*. Eds. Jarrige, R. et al. INRA, France.
- Khattab H.M, Gado, H.M, Salem, AZM, Camacho, LM, El-Sayed MM, Kholif, AM, Elshewy AA, Kholif AE. (2013): Chemical Composition and in vitro digestibility of *Pleurotus ostreatus* spent rice straw. *Animal Nutrition and Feed Technology*. 13, 507-516.
- Kholif AE, Hernandez A, Lugo-Coyote R, Elghandour MMY, Cipriano M, Rodríguez GB, Odongo NE, Salem AZM, (2017): The effect of garlic oil, xylanase enzyme and yeast on biomethane and carbon dioxide production from 60-d old Holstein dairy calves fed a high concentrate diet. *J. Clean. Prod.*, 142, 2384-2392.
- Lawson, L. 1996. The composition and chemistry of garlic cloves and processed garlic. Pages 37–107 in *Garlic: The Science and Therapeutic Application of Allium sativum L. and Related Species*. H. P. Koch, and L. D. Lawson, ed. Williams & Wilkins, Baltimore, MD.
- Mc Allister, T. A., Okine, E.K, mathison, G.W y Cheng, K.J. 1996. Dietary, enviromental and microbiological aspects of methane produccion in rumnants. *An. J. Anim. Sci.* 76:231-243.
- Mitsch P, Zitterl-Eglseer K, Kohler B, Gabler C, Losa R, Zimpernik I (2004) The effect of two different blends of essential oil components on the proliferation of *Clostridium perfringens* in the intestines of broiler chickens. *Poult. Sci.* 83: 669-675.
- Nava CC y Díaz CA. (2001): Introducción a la digestión ruminal. http://www.produccionanimal.com.ar/informacion_tecnica/manejo_del_alimento/79-introduccion_a_la_digestion_ruminal.pdf (03 de Julio 2017).

- NRC, (2001): Nutrient Requirements of Dairy Cattle, 7th revised ed. National Academy Press, Washington, DC, USA.
- Orskov, E. R.; M. Ryle. 1998. Energy nutrition in ruminants. Chalcombe publications, Painshall. Church Lane, Welton, Lincoln, LN2 3 LT, UK.
- Orskov, E. R.; M. Ryle. 1998. Energy nutrition in ruminants. Chalcombe publications, Painshall. Church Lane, Welton, Lincoln, LN2 3 LT, UK.
- Orskov, E.R. y MacLeod, N.A. 1990. Dietary-induced thermogenesis and feed evaluation in ruminants. Proc. Nutr. Soc. 49. 227.
- Owens, F. N.; a. I., Goetsch. 1986. Digesta passage and microbial protein synthesis. En: Control of digestion and metabolism in ruminants. L. P. Milligan, W. L. Grovum y A. Dobson. Eds. Reston Book, Prentice- Hall, Englamood Cliffs, New Jersey. p 196 – 226.
- Rojo R, Kholif AE, Salem AZM, Elghandour MMY, Odongo N, Montes de Oca R, Rivero N, Alonso MU. (2015): Influence of cellulase addition to dairy goat diets on digestion and fermentation, milk production and fatty acid content. J. Agri. Sci. 153(8), 1514 – 1523.
- Shiva C, Bernal S, Sauvain M, Caldas J, Kalinowski J, Falcón N, Rojas R (2012) Evaluación del aceite esencial de orégano (*Origanum vulgare*) y extracto deshidratado de jengibre (*Zingiber officinale*) como potenciales promotores de crecimiento en pollos de engorda. Rev. Inv. Vet. Perú. 23: 160-170.
- Smeti S, Joy M, Hajji H, Alabart JL, Muñoz F, Mahouachi M, Atti N. (2015): Effects of *Rosmarinus officinalis* L. essential oils supplementation on digestion, colostrum production of dairy ewes and lamb mortality and growth. Anim. Sci. J.86, 679-688.
- Tager LR, Krause KM (2011) Effects of essential oils on rumen fermentation, milk production, and feeding behavior in lactating dairy cows. J. Dairy Sci. 94: 2455-2464.
- Talebzadeh R, Alipour D, Saharkhiz MJ, Azarfar A, Malecky M (2012) Effect of essential oils of *Zataria multiflora* on in vitro rumen fermentation, protozoal

population, growth and enzyme activity of anaerobic fungus isolated from Mehraban sheep. *Anim. Feed Sci. Technol.* 172: 115-124

- Theodorou MK, Williams BA, Dhanoa MS, Mcallan AB, France J. (1994): A simple gas production method using a pressure transducer to determine the fermentation kinetics of ruminant feeds. *Anim. Feed Sci. Technol.* 48, 185-197.
- Togtokhbayar N, Cerrillo SMA, Rodríguez GB, Elghandour MMY, Salem AZM, Urankhaich C, Jigjdpurev S, Odongo NE, Kholif AE. (2015): Effect of exogenous xylanase on rumen in vitro gas production and degradability of wheat straw. *Anim. Sci. J.* 86, 765-71.
- Tongnuanchan P, Benjakul S, Prodpran T (2013) Physico-chemical properties, morphology and antioxidant activity of film from fish skin gelatin incorporated with root essential oils. *J. Food Eng.* 117: 350-360.
- Van Soest, P.J. 1982. *Nutritional Ecology of the Ruminants*. O. and Books, Oregon, USA.
- Windisch W, Schedler K, Plitzner C, Kroismayr. (2008) Use of phytogetic as feed additives for swine and poultry. *J. Anim. Sci.* 86: 140-148.
- Yokohama, M. T.; K. A, Johnson. 1988. *Microbiología del rumen e intestino. El rumiante, fisiología digestiva y nutrición*. C. D. Church, Ed. Editorial Acribial. Zaragoza. España. P 137 – 158.