

COMPARACION DE LA REPERCUSION DE LA SUPLEMENTACIÓN DE LA DIETA CON ACEITE ESENCIAL DE CLAVO O TOMILLO SOBRE LA CALIDAD DE LA LECHE DE OVEJA

Revilla¹, I., Sanjuán, D¹., Vivar-Quintana, A.M¹., M.A. y Palacios², C.

¹Area de Tecnología de Alimentos, Universidad de Salamanca, E.P.S. de Zamora, Av.

Requejo 33, 49022 Zamora. irevilla@usal.es.

²Area de Producción Animal. Universidad de Salamanca. Facultad de Ciencias Agrarias y Ambientales, Avda Filiberto Villalobos, 119, 37007 Salamanca.

INTRODUCCION

Existe un creciente interés en el campo de la nutrición animal en el estudio del efecto que puede tener la inclusión en la dieta de animales rumiantes de aditivos capaces de modificar la fermentación ruminal con el objetivo de mejorar el aprovechamiento de los nutrientes por parte de los microorganismos del rumen. En especial el uso de aceites esenciales ha suscitado gran interés debido a sus propiedades antimicrobianas y a que suponen una alternativa segura a los antibióticos (Calasmiglia *et al.*, 2006), lo cual resulta de especial interés en la producción ecológica.

De entre los aceites esenciales, los aceites de tomillo (*Thymus vulgaris*) y clavo (*Eugenia caryophyllus*) y su efecto sobre la fermentación ruminal han sido de los más estudiados. La adición de tomillo a la dieta produce una modificación de la fermentación aumentando los ácidos grasos volátiles (VFA) y disminuyendo las concentraciones de N-amoniaco (Castillejos *et al.*, 2008). En cuanto a la adición de aceite esencial de clavo, los estudios de Busquet *et al.* (2006) sobre la dinámica ruminal mostraron que éste afectó tanto al metabolismo proteico como al energético, reduciendo la concentración de AGV totales y del N amoniaco, así como aumentando la proporción molar de propionato y butirato y reduciendo la de acetato. Este perfil de fermentación indica que, a dosis óptimas, la eficacia de la utilización de la energía mejoró. A pesar de estos prometedores resultados, la información sobre el efecto de la adición de aceites esenciales sobre la composición de la leche es más bien escasa y no se ha encontrado ninguna referencia relativa al efecto de la adición de aceite esencial de tomillo y clavo. Trabajos previos en ganado vacuno, han revelado que en general la adición de diversos aceites esenciales no produjo cambios en la producción lechera o en su composición (Hosoda *et al.*, 2005, Benchaar *et al.*, 2007) si bien algunos autores han encontrado ligeros aumentos en la grasa de la leche (Yang *et al.*, 2006) o en el contenido proteico (Spanghero *et al.*, 2009), así como ligeros cambios en el perfil lipídico (Benchaar *et al.*, 2007). Teniendo en cuenta lo anteriormente expuesto el objetivo del presente trabajo fue evaluar la repercusión que tiene la inclusión de aceite esencial de tomillo y de clavo sobre la calidad de leche de ovejas de producción ecológica, comparándola frente a un grupo control y su seguimiento a lo largo de la lactación.

MATERIAL Y METODOS

El estudio se llevó a cabo en un rebaño ecológico certificado (CAECYL) de ovejas de raza Churra situado en Fariza (Zamora). Debido al pequeño tamaño del rebaño los ensayos se llevaron a cabo de forma separada y consecutiva. En cada ensayo se eligieron cuarenta ovejas que parieron en un intervalo de 2 días y estas se separaron de manera aleatoria en dos grupos control y tratado. Las ovejas del grupo control iban todos los días a pastar centeno fresco (*ad libitum*) y la dieta era suplementada en el establo hasta un máximo del 30% de la ración (aproximadamente 700 gr) con pienso certificado ecológico compuesto por forraje de alfalfa (35%), guisantes (25%), centeno (17%), cebada (13%), semillas de girasol (10%) y 70 ml de Melaza Morea® (Bloques Minerales, S.L., Valladolid). En el primer ensayo los animales recibieron 5 mg por animal y día de aceite esencial de tomillo ecológico (Pranarom, Bélgica) y en el segundo ensayo 5 mg por animal y día de aceite esencial de clavo ecológico (Pranarom, Bélgica) disueltos en ambos casos en Melaza Morea® durante un total de 30 días. Las muestras de leche se tomaron a los 0, 10, 20 y 30 días tras el parto. En las muestras de leche se analizó el pH (CRISON Basic20), nitrógeno total mediante método Kjeldahl expresando los resultados como proteína (TN x 6.38), acidez total (método Dornic), extracto seco, lactosa y grasa (método Gerber). La capacidad antioxidante total fue medida mediante el método espectrofotométrico ABTS sobre leche desnatada diluida 1:10 según el método propuesto por de Renobales *et al.* (2012) usando Trolox® como

antioxidante de referencia. La curva de calibrado fue lineal y la capacidad antioxidante (TEAC) se expresó en $\mu\text{mol Trolox/ml}$. Los polifenoles totales se determinaron por el método de Folin-Ciocalteus (Paronetto, 1977) sobre suero de leche diluido 1:10. Todos los análisis se realizaron por duplicado. El análisis estadístico de los datos se realizó mediante un análisis MANOVA para los factores tiempo y tratamiento. Posteriormente se utilizó el test ANOVA para determinar la existencia de diferencias significativas entre control y muestra tratada en cada uno de los puntos de muestreo (Statgraphic Plus, Manugistics, Inc.1995).

RESULTADOS Y DISCUSION

El análisis estadístico de los valores de composición obtenidos para la leche de los grupos control en ambos ensayos, mostró diferencias estadísticamente significativas para prácticamente todos los parámetros por lo que cada tratamiento fue comparado frente a su control. Los resultados del análisis MANOVA muestran un aumento estadísticamente significativo de la cantidad de grasa ($p<0,05$) tanto en el caso de la adición de aceite esencial de tomillo (8,2 vs 7,9) como de clavo (7,8 vs 7,5). La evolución del contenido de grasa a lo largo de la lactación (Tabla 1) sin embargo no muestra diferencias significativas entre control y grupo tratado para ninguno de los puntos de muestreo. El resto de los parámetros de composición básica, lactosa, proteína, extracto seco, pH y acidez no mostraron un efecto significativo del tratamiento cuando se les aplicó el análisis MANOVA, sin embargo sí se pudieron apreciar diferencias significativas entre control y grupo tratado en algunos puntos de muestreo. Así en el caso de la proteína, se observó un aumento significativo del grupo tratado con tomillo los días 10 y 20 de muestreo, mientras que en el caso del clavo las diferencias no fueron claras a favor de uno y otro grupo. A pesar de estos valores, el grupo tratado con tomillo no presentó unos valores de extracto seco claramente más altos mientras que en el caso del clavo el grupo tratado presentó valores significativamente más alto al principio del tratamiento pero más bajos al final. En cuanto a la lactosa no hubo ninguna influencia del tratamiento sobre este compuesto, lo cual difiere de los resultados previos de Benchaar *et al.* (2007) quienes únicamente encontraron un efecto significativo de la adición de mezcla de aceites esenciales sobre el contenido de lactosa. Sin embargo estos resultados sí coinciden con lo apuntado por Yang *et al.* (2006) y Spanghero *et al.* (2009) quienes encontraron un aumento del contenido en grasa o proteína respectivamente en la leche de animales suplementados con aceites esenciales debido a una mejora de la actividad ruminal tanto del metabolismo energético como del proteico. En cuanto al pH este fue significativamente más alto en el control que en el grupo tratado con tomillo prácticamente durante toda la lactación pero este resultado no se pudo observar en el caso del clavo y esta diferencia de pH no se vio reflejada en la acidez total, la cual no mostró diferencias significativas en ningún punto ni tratamiento.

Teniendo en cuenta que los principios activos del tomillo (timol y carvacrol) y clavo (eugenol) son fenoles, se estudió el contenido en polifenoles totales en el suero encontrándose que la suplementación con clavo produjo un efecto significativo (MANOVA $p<0,01$) de modo que el contenido en fenoles fue mayor en el grupo tratado, siendo además las diferencias significativas hasta el día 10. Los compuestos fenólicos son potentes antioxidantes por lo que también se procedió a estudiar la capacidad antioxidante de las muestras. Aunque los valores fueron ligeramente más altos en los días iniciales de tratamiento no se encontró un efecto significativo de los aceites esenciales añadidos. Todo ello parece apuntar a un efecto más claro de los aceites esenciales en los primeros días de su uso como ya han señalado otros autores (Benchaar *et al.*, 2008).

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- Benchaar, C., Calsamiglia, S., Chaves, A.V., Fraser, G.R., Colombatto, D., McAllister, T.A. & Beauchemin, K.A. 2008. *Animal Feed Sci. Tech.*, 145, 209-228.
- Benchaar, C., Petit, H.V., Berthiaume, R., Ouellet, D.R., Chiquette, J. & Chouinard P.Y. 2007. *J. Dairy Sci.*, 90, 886-897.
- Busquet, M., Calsamiglia, S., Ferret, A., Kamel & C. 2006. *J. Dairy Sci.*, 89, 761-771.
- Calsamiglia, S., Castillejos, L. & Busquet M. 2006. *Recent Advances in Animal Nutrition*. Nottingham University Press, Nottingham UK. 129-167.
- Castillejos, L., Calsamiglia S., Martín-Tereso J. & Ter Wijlen H. 2008. *Animal Feed Sci. Tech.*, 145, 259-270.
- de Renobales, M., Amores, G., Arranz, J., Virto, M., Barrón, L.J.R., Bustamante, M.A., Ruiz de Gordo, J.C., Nájera, A.I., Valdivielso, I., Abilleira, E., Beltrán de Heredia, I., Pérez-Elortondo

F.J., Ruiz, R., Albusu, M. & Mandaluniz, N. 2012. Food Chem., 130, 90–96. •Hosoda, K., Nishida, T., Park, W.Y. & Eruden B. 2005. Asian-Australian J. Animal Sci. 18, 1721-1726. •Paronetto L. 1977. Polifenoli e tecnica enologica, Selepress, Milán, Italy. Spanghero, M., Robinson, P.H., Zanfi C. & Fabbro E. 2009. Animal Feed Sci. Tech., 153, 153-157. •Yang, W.Z., Chaves, A.V., He, M.L., Benchaar C. & McAllister T.A. 2006. Can. J. Animal Sci., 86, 598.

Agradecimientos: A la Fundación Científica Caja Rural de Zamora por la financiación.

Tabla 1. Valores medios de los parámetros físico-químicos de calidad de la leche de oveja para los aceites esenciales de tomillo y clavo a lo largo de la lactación.

Grasa					Lactosa				
Día	Control	Tomillo	Control	Clavo	Día	Control	Tomillo	Control	Clavo
0	7,95	8,10	7,40	7,60	0	4,35	4,35	4,14 ^a	4,21 ^a
10	7,50	7,80	7,15	7,30	10	4,39	4,46	4,06 ^b	3,99 ^a
20	7,80	8,10	7,40	7,65	20	4,18	4,14	4,28 ^a	4,25 ^a
30	8,35	8,75	8,25	8,70	30	4,10	4,10	4,21 ^a	4,21 ^a
Proteína					Extracto Seco				
Día	Control	Tomillo	Control	Clavo	Día	Control	Tomillo	Control	Clavo
0	9,66 ^a	9,74 ^a	6,60 ^a	7,62 ^b	0	24,74 ^a	24,92 ^a	18,14 ^a	19,43 ^b
10	5,03 ^a	5,23 ^b	4,51 ^a	5,12 ^a	10	18,96 ^b	18,24 ^a	15,72 ^a	16,41 ^b
20	5,00 ^a	5,14 ^b	5,31 ^a	4,59 ^a	20	15,60 ^a	16,34 ^b	16,99 ^b	16,48 ^a
30	5,08 ^a	4,73 ^a	5,86 ^b	4,27 ^a	30	17,81 ^b	16,19 ^a	18,32 ^b	17,18 ^a
pH					Acidez				
Día	Control	Tomillo	Control	Clavo	Día	Control	Tomillo	Control	Clavo
0	5,89 ^b	5,75 ^a	6,71 ^b	6,61 ^a	0	0,26	0,25	0,22	0,23
10	6,06 ^b	5,95 ^a	6,77 ^a	6,80 ^b	10	0,24	0,23	0,24	0,22
20	6,42 ^b	6,35 ^a	6,97 ^b	6,92 ^a	20	0,25	0,24	0,21	0,22
30	6,36 ^a	6,52 ^b	6,88 ^a	6,92 ^a	30	0,21	0,23	0,24	0,23
Polifenoles totales (mg ac. gálico/L)					TEAC (μmol Trolox/ml)				
Día	Control	Tomillo	Control	Clavo	Día	Control	Tomillo	Control	Clavo
0	80,65 ^a	96,36 ^b	32,69 ^a	53,36 ^b	0	18,23 ^a	18,64 ^a	14,18	15,07
10	37,65 ^a	37,93 ^a	24,14 ^a	34,62 ^b	10	16,22 ^a	20,84 ^b	14,44	14,00
20	31,31 ^a	28,28 ^a	27,18 ^a	31,86 ^a	20	19,08 ^a	17,45 ^a	16,66	15,75
30	35,44 ^a	25,52 ^a	39,58 ^a	38,20 ^a	30	17,32 ^a	16,14 ^a	16,26	11,99

COMPARISON OF THE EFFECT OF SHEEP DIET SUPPLEMENTATION WITH CLOVE OR THYME ESSENTIAL OIL ON MILK QUALITY

ABSTRACT: The effect of thyme or clove essential oil addition to the sheep diet was evaluated. In each trial forty animals in organic production system and at the same stage of lactation was divided into two equal groups that were fed the same diet but the treated group received 5 mg of essential oil per day and animal dissolved in Melaza Morea®. Milk samples were taken on 0, 10, 20 and 30 days of treatment and analysed for fat, protein, lactose, dry extract, pH, acidity, total polyphenols and antioxidant capacity. The results showed a significant increase of fat content for both essential oils and of total polyphenols for clove essential oil. Moreover a significant increase of protein the first days of treatment was observed for thyme essential oil addition. These results point out to that essential oil addition to the ewe's diet improved the ruminal activity especially energetic and proteic metabolism.

Keywords: essential oil, dairy sheep, total phenols, TEAC.