

Glycerol metabolism in ruminants

Metabolismo del glicerol en rumiantes

Cabrera-Cruz, Miguel A.*

Colegio de Postgraduados Programa de Ganadería.

*Autor de correspondencia: cabrera.miguel@colpos.mx

ABSTRACT

Objective: To analyze the metabolism of glycerol in ruminants, their precursors and the final products of their metabolism. Likewise, the repercussion that can have at the microbiological level in the rumen.

Design/methodology/approach: In this work, research was analyzed in which glycerol was provided to the diet of ruminants and the precursors synthesized in the animal from this ingredient.

Study limitations/implications: Currently, glycerol, a byproduct of biodiesel production, is used as an energy substitute in diets for ruminants. Its high energetic value is due to gluconeogenic characteristics, since the ruminal fermentation of glycerol produces propionic acid which can be transformed in the liver and kidneys to glucose, which is used by the animal as an energy source.

Findings/conclusions: Different studies show that glycerol can replace grains, such as corn (*Zea mays* L.), in diet for ruminants, without having negative effects on the rumen's ecology.

Keywords: Propionic acid, glucose, glycerol, rumen.

RESUMEN

Objetivo: Analizar el metabolismo del glicerol en rumiantes, sus precursores y los productos finales de su metabolismo. Así como la repercusión que puede tener a nivel microbiológico en el rumen.

Diseño/metodología/aproximación: En este trabajo se analizaron investigaciones en las que se ha proporcionado glicerol a la dieta de rumiantes y los precursores sintetizados en el animal a partir de este ingrediente.

Limitaciones del estudio/implicaciones: Actualmente el glicerol, subproducto de la producción de biodiesel, es usado como sustituto energético en dietas para rumiantes. Su alto valor energético se debe a características gluconeogénicas, ya que la fermentación ruminal del glicerol produce ácido propiónico el cual puede ser transformado en el hígado y riñones a glucosa, que es utilizada por el animal como fuente de energía.

Hallazgos/conclusiones: Diferentes investigaciones demuestran que el glicerol puede sustituir a granos, como el maíz (*Zea mays* L.), en dieta para rumiantes, sin tener efectos negativos en la ecología del rumen.

Palabras clave: Acido propiónico, glucosa, glicerol, rumen.

Agroproductividad: Vol. 12, Núm. 4, abril. 2019. pp: 81-85.

Recibido: junio, 2018. **Aceptado:** diciembre, 2018.

INTRODUCCIÓN

La demanda global de energía ha incrementado la producción y el comercio de biocombustibles, con el fin de sustituir fuentes de energía fósiles, para mejorar la seguridad energética y contribuir a la reducción de emisiones de gases de efecto invernadero (Heinimo y Junginger, 2009; Walter *et al.*, 2008). Esto ha aumentado la competencia por materias primas para alimentos destinados a consumo humano y animal. Es el caso del almidón y aceites vegetales que son convertidos en bioetanol y biodiesel, quedando como subproducto de este proceso el glicerol. El glicerol es un componente estructural importante de triglicéridos y fosfolípidos, donde su propiedad gluconeogénica están bien establecidas (Cori y Shine, 1935). El glicerol entra a la vía metabólica de la glucosa en un paso diferente de otros precursores glucogénicos (Leng, 1970), en los rumiantes, el glicerol se fermenta en el rumen produciendo ácidos grasos de cadena corta, principalmente propiónico y butírico, siendo en hígado y riñones donde se sintetizará la glucosa a partir del ácido propiónico (Van-Cleef *et al.*, 2016). Sin embargo, el potencial nutricional de la glicerina, depende de varios factores, entre los que se encuentran, el tipo de dieta base en el que se incorpore (dietas altas en granos contra dietas altas en fibra), el nivel de inclusión (<15% de la MS total) y su grado de pureza (definida como aquella glicerina con altos contenidos de glicerol y baja concentración de metanol y sales) (Drackley, 2008). Por lo anterior, se muestra la ruta metabólica del glicerol en rumiantes y los cambios en la fermentación ruminal que se han reportado en animales alimentados con glicerol en la dieta.

Metabolismo del glicerol en rumiantes

El glicerol se fermenta a ácidos grasos volátiles (AGV) en el rumen. Las primeras investigaciones sobre su fermentación en el rumen indican que el glicerol es casi completamente fermentado a propionato (Garton *et al.*, 1961). Otros autores indican un aumento de ácido acético y propiónico o más propiónico y butírico (Czerkawski y Breckenridge, 1972). Estudios en los que se ha usado glicerol indican que la mayor parte se convierte en propionato (Bergner *et al.*, 1995). Los microorganismos ruminales se adaptan al glicerol con tasas rápidas de desaparición de éste. En estudios donde se añadió de 15% a 25% de glicerol en la dieta, la mayor parte desapareció en 6 h (Bergner *et al.*, 1995). La estimación de la desaparición de una dosis de 200 g de glicerol indica que más del 85% de glicerol en el rumen desaparece en 2 h en ganado acostumbrado a su consumo (Kijora *et al.*, 1998). Asimismo, hay reportes que sugieren que una parte del glicerol que ingresa al rumen puede ser absorbido directamente (Remond *et al.*, 1993). El destino del glicerol absorbido es metabolizado en el hígado (Lin, 1977) y usado para la gluconeogénesis. Cuando la demanda de glucosa es alta, como es el caso de vacas lactantes, el destino del glicerol absorbido o del propionato producido en la fermentación ruminal es probable que sea el mismo.

El propionato absorbido es metabolizado principalmente por el hígado, y en mucha menor proporción por otros tejidos hasta succinil-CoA, el cual ingresa al Ciclo de Krebs siguiendo los pasos hasta oxalacetato. A partir de allí puede proseguir a ci-trato continuando el Ciclo de Krebs,

o bien, ir a la síntesis de aminoácidos o seguir la vía gluconeogénica. El rumiante tiene escasez crónica de glucosa debido a que la mayor parte de la glucosa proveniente de la degradación de los carbohidratos del alimento es fermentada en el rumen. Por lo tanto, el propionato se destina principalmente para la gluconeogénesis en el hígado (Cook y Miller, 1953). El propionato removido por el epitelio ruminal es metabolizado a lactato, CO₂ e incluso alanina. Se deben considerar los roles de la biotina y la vitamina B₁₂ en la conversión de propionato a succinato, como cofactores de las enzimas propionil Co A carboxilasa y metil malonil-Co A isomerasa, respectivamente. El propionato es el principal precursor gluconeogénico en rumiantes bajo condiciones normales. La mayor parte del mismo proviene de la absorción ruminal, pero una pequeña parte puede venir de la oxidación de ácidos grasos de cadena impar (que a su vez pueden ser de origen ruminal o de la lipólisis del propio tejido adiposo).

Producción de ácidos grasos de cadena corta en rumiantes alimentados con glicerol

El glicerol es fermentado rápidamente en el rumen, por lo tanto, su concentración como glicerol libre en el fluido ruminal es baja (Wright, 1969). Algunos autores han propuesto que el ácido propiónico es el principal ácido graso volátil derivado del glicerol, el cual es importante en la síntesis de glucosa en los rumiantes (Garton *et al.*, 1961). Trabue *et al.* (2007) reportaron en un trabajo *in vitro* que después de 24 h de haber adicionado glicerol, aproximadamente el 80% se metabolizó, disminuyendo la formación de acetato, y las principales rutas de fermentación del rumen son

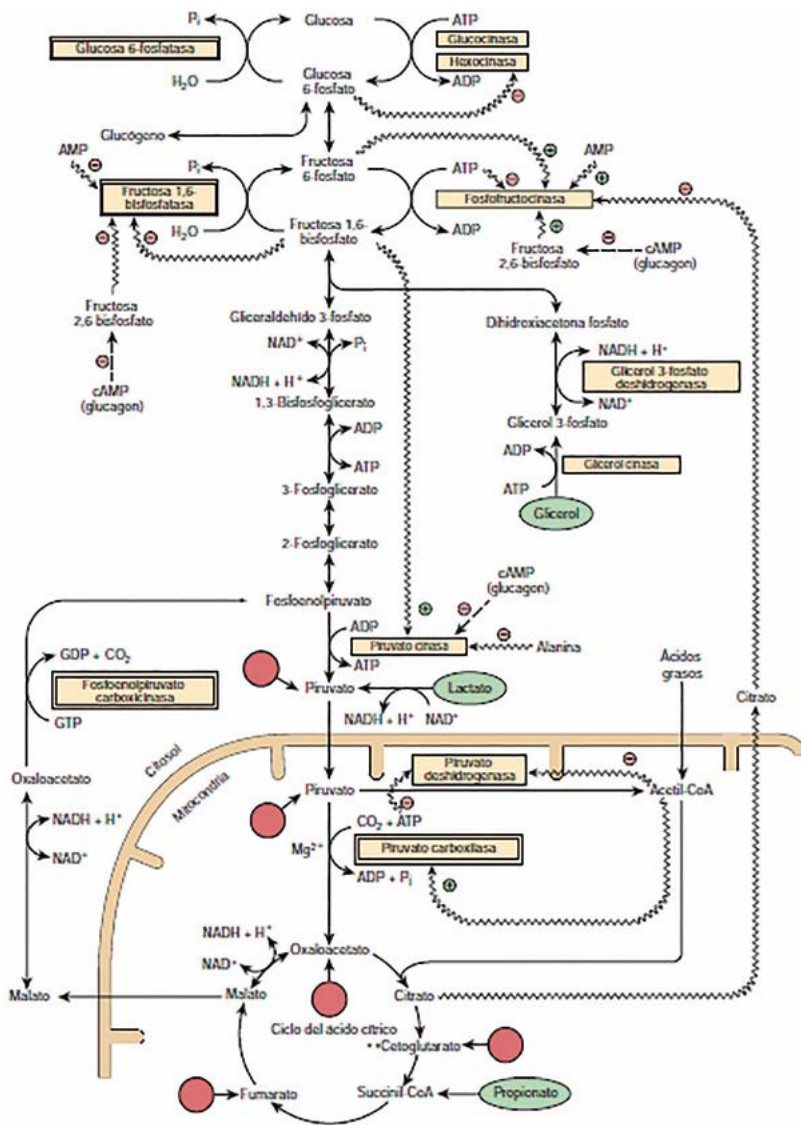


Figura 1. Principales vías y regulación de la gluconeogénesis y glucólisis en el hígado. Los puntos de entrada de aminoácidos glucogénicos luego de la transnominación están indicados por flechas que se extienden desde círculos. Las enzimas gluconeogénicas clave están encerradas en cuadros con doble marco. El ATP requerido para la gluconeogénesis se obtiene mediante la oxidación de ácidos grasos. El propionato solo tiene importancia cuantitativa en rumiantes. Las flechas onduladas significan efectos alostéricos; las flechas discontinuas, modificación covalente por fosforilación reversible. Las altas concentraciones de alanina actúan como una "señal gluconeogénica" al inhibir la glucólisis en el paso de la piruvato cinasa (Murray *et al.*, 2010).

absorción y fermentación (Nielsen e Ingvaltsen, 2004). Se han documentado aumentos lineales en propionato y butirato dentro del rumen y una reducción lineal en acetato en relación a propionato con dosis crecientes de glicerol en la dieta de novillos (Wang *et al.*, 2009), las proporciones en el rumen para acetato, propionato y butirato no se vieron afectados por la alimentación de glicerol de ganado bovino. La adición de glicerol a 0.05 % *in vitro* inhibió considerablemente el crecimiento y la actividad celulítica de bacterias y hongos del rumen (Roger *et al.*, 1992). Sin embargo, otros estudios

no mostraron inhibición de crecimiento y actividad celulítica de las bacterias ruminales; El glicerol también redujo la actividad proteolítica del rumen de bovinos en aproximadamente 20% cuando las concentraciones de glicerol en el medio oscilaron entre 50-300 mM (Paggi *et al.*, 2004)

El propionato es el único AGV capaz de formar glucosa debido a que su número de carbonos es tres y forma directamente oxalacetato. Los otros AGV, acetato y butirato, entran como acetyl CoA (2 C) al ciclo de Krebs. Sin embargo, se pierden dos moléculas de CO₂ y el proceso empieza y termina con el mismo número de moléculas de oxalacetato. No hay, entonces, síntesis neta de glucosa a partir del acetyl CoA derivado de los ácidos grasos. Por ello se considera que el propionato es neoglucogénico y los demás (acetato y butirato) son cetogénicos (Judson *et al.*, 1968).

Schorder y Sudekum (1999) reportaron que la proporción de acetato ruminal a propionato disminuyó cuando se adicionó glicerol en la dieta. Khalili *et al.* (2008) mencionan una disminución de NH₃-N en vacas alimentadas con glicerol sin que los tratamientos afectaran las mediciones preparto; sin embargo, las diferencias fueron notable postparto. Sustituyendo glicerol por maíz (*Zea mays* L.) en la dieta, se observa una tendencia a fermentar más butirato, valerato e isovalerato y menos acetato. Estudios han reportado que la reducción de la digestibilidad de fibra detergente neutra ocasiona una disminución en las concentraciones de acetato y propionato en el rumen, pero que la baja disponibilidad del al-

midón, como resultado de la sustitución del glicerol por maíz en la dieta no modificaron las concentraciones de propionato en el rumen (Ribeiro *et al.*, 2005; Castillejos *et al.*, 2006).

Efecto del glicerol en la microbiota del rumen

Se ha intentado determinar los efectos que tiene el glicerol en las funciones del rumen relacionado con la adhesión bacteriana a celulosa y celulólisis. La adhesión a celulosa es la etapa preliminar en la celulólisis microbiana (Cheng *et al.*, 1984). Muchos autores lo consideran indis-

pensable para la degradación de los polisacáridos insolubles (lathanm *et al.*, 1979). Se ha encontrado que cuando se administran concentraciones entre 0.1 y 2% de glicerol no se afecta la adhesión de *Ruminococcus flavefaciens* y *Fibrobacter succinogenes* a las paredes celulares, pero se ha observado una ligera disminución en el porcentaje de bacterias que se adhieren en concentraciones con 5% de glicerol. El mecanismo de acción del glicerol es desconocido, pero puede hacer que el sustrato sea menos accesible a las células bacterianas. Cheng *et al.* (1991) han demostrado que la adhesión de los hongos a la celulosa y la celulólisis son dos procesos funcionalmente relacionados. En contraste, el glicerol inhibe fuertemente la actividad celulolítica de *Neocallimastix frontalis*, por ejemplo, en una concentración de 0.5%, la cantidad de celulosa se redujo a la mitad y con una concentración del 5% se inhibió la actividad de los hongos. Lo mismo se observó en relación a la actividad celulolítica, la cual también se detuvo en dos especies de bacterias al agregar glicerol en una concentración del 5%, siendo mayor en *Fibrobacter succinogenes* que en *Ruminococcus flavefaciens*. El glicerol puede inhibir las celulasas de los microorganismos ya sea bloqueando su sitio de acción o modificando su afinidad por el sustrato. El glicerol en concentraciones altas puede afectar la permeabilidad de la pared celular bacteriana y modificar la excreción de celulasas (Abo *et al.*, 2010).

Los productos principales de este tipo de fermentación son ácido propiónico, ácido acético, ácido succínico y dióxido de carbono. Es característica de las bacterias del género *Propionibacterium*, *Veillonella* y *Clostridium propionicum*, que puedan producir ácido propiónico utilizando el ácido láctico como sustrato, y algunas también a partir de polialcoholes, aminoácidos y otros ácidos orgánicos distintos al ácido láctico (Tsiung y Tian, 2014).

CONCLUSIONES

Las investigaciones muestran un panorama más amplio del metabolismo del glicerol y su aprovechamiento en los rumiantes. Así mismo, demuestran que la sustitución del glicerol por maíz en la dieta no genera un efecto negativo en la ecología del rumen; aun cuando existe una modificación en la síntesis de ácidos grasos volátiles, con mayor síntesis de ácido propionico, producto de la fermentación del glicerol en el rumen, y no es significativo para modificar la sinergia ruminal.

LITERATURA CITADA

- Abo El-Nor, S., A.A. AbuGhazaleh, R.B. Potu, D. Hastings and M.S.A. Khattab, 2010. Effects of differing levels of glycerol on rumen fermentation and bacteria. *Anim. Feed Sci. Technol.*, 162: 99-105.
- Bergner, H., Kijora C., Ceresnakova Z., and Szakacs J. 1995. *In vitro* studies on glycerol transformation by rumen microorganisms. *arch. tierernahr.* 48:245-256.
- Castillejos, L., S. Calsamiglia and A. Ferret, 2006. Effect of essential oil active compounds on rumen microbial fermentation and nutrient flow in *in vitro* systems. *J. Dairy Sci.*, 89: 2649-2658.
- Cheng KJ, Stewart CS, Dinsdale D, Costerton JW (1984) Electron microscopy of bacteria involved in the digestion of plant cell walls. *Anita Feed Sci Technol* 10:93-120.
- Cheng KJ, Kudo H, Duncan SH, Mesbah A, Stewart CS, Bernalier A, Fonty G, Costerton JW (1991) Prevention of fungal colonization and digestion of cellulose by the addition of methylcellulose. *Can J Microbiol* 37:484-487.
- Cook, R. M. and Miller I. D. Utilization of volatile fatty acids in ruminants. Removal of them from portal blood by the liver. *Journal of Dairy Science* 48: 1339-1345, 1965.
- Cori, C.F. and W.M. Shine, 1935. The formation of carbohydate from glycerophosphate in the liver of the rat. *Science*, 82: 134-135.
- Czerkawski, J. W., and Breckenridge G. 1972. Fermentation of various glycolytic intermediates and other compounds by rumen micro-organisms, with particular reference to methane production. *The British Journal of Nutrition*, 27:131-146.
- Drackley J.K. 2008. Calf nutrition from birth to breeding. *The veterinary clinics of North America. Food Animal Practice.* 24(1):55-86.
- Garton, G. A., Lough A. K., and Vioque E. 1961. Glyceride hydrolysis and glycerol fermentation by sheep rumen contents. *Journal of General Microbiology.* 25:215-225.
- Heinimo, J. and M. Junginger, 2009. Production and trading of biomass for energy-an overview of the global status. *Biomass Bioenergy*, 33: 1310-1320.
- Khattab, M.S.A., S.A.H. Abo El-Nor, H.M.A. El-Sayed, N.E. El-Bordeny, M.M. Abdou and O.H. Matloup, 2012. The effect of replacing corn with glycerol and fibrinolytic enzymes on the productive performance of lactating goats. *Int. J. Dairy* 7: 95-102.
- Khalili, H., T. Varvikko and V. Toivonen, 2008. The effects of added glycerol or unprotected free fatty acids or a combination of the two on silage intake, milk production, rumen fermentation and diet digestibility in cows given grass silage based diets. *Agric. Food Sci.*, 6: 349-362.
- Kijora C., Bergner H., Gotz K. P., Bartelt J., Szakacs J., and Sommer A. 1998. Research note: investigation on the metabolism of glycerol in the rumen of bulls. *Archive fur tierernahrung.* 51:341-348.
- Leng, R.A., 1970. Glucose Synthesis in Ruminants. *In: Advances in Veterinary Science and Comparative Medicine*, Brandly, C.A. and C.E. Cornelius (Eds.). Academic Press, New York, USA., pp: 241-242.
- Lin, E. C. C. 1977. Glycerol utilization and its regulation in mammals. *Annual review biochemistry.* 46:765-795.
- Murray R. K., Granner D. K., Mayes P. A., Rodwell V. W. 2010. *Bioquímica de harper.* 20ª edición. editorial mcgraw-hill interamericana. 693p.

- Nielsen, N.I. and K.L. Ingvarsten, 2004. Propylene glycol for dairy cows: A review of the metabolism of propylene glycol and its effects on physiological parameters, feed intake, milk production and risk of ketosis. *Anim. Feed Sci. Technol.*, 115: 191-213.
- Paggi, R.A., J.P. Fay and C. Faverin, 2004. *In vitro* ruminal digestibility of oat hay and cellulolytic activity in the presence of increasing concentrations of short-chain acids and glycerol. *J. Agric. Sci.*, 142: 89-96.
- Rémond B., Souday E., and Jouany J.P. 1993. *in vitro* and *in vivo* fermentation of glycerol by rumen microbes. *Animal Feed Science and Technology*. 41:121-132.
- Roger, V., G. Fonty, C. Andre and P. Gouet, 1992. Effects of glycerol on the growth, adhesion and cellulolytic activity of rumen cellulolytic bacteria and anaerobic fungi. *Curr. Microbiol.*, 25: 197-201.
- Ribeiro, C.V.D.M., S.K.R. Karnati and M.L. Eastridge, 2005. Biohydrogenation of fatty acids and digestibility of fresh alfalfa or alfalfa hay plus sucrose in continuous culture. *J. Dairy Sci.*, 88: 4007-4017.
- Schroder, A. and K.H. Sudekum, 1999. Glycerol as a by-product of biodiesel production in diets for ruminants. Proceedings of the 10th International Rapeseed Congress, September 26-29, 1999, Canberra, Australia.
- Tsiung S, Hsu, Tian Yang S. Propionic acid fermentation of lactose by *Propionibacterium acidipropionici*: effects of pH. *Biotechnol Bioeng*. 38:6
- Van Cleef EHCB, Sancanari JBD, Silva ZF, D'Aurea AP, Favaro VR, van Cleef FOS, et al. 2016. High concentrations of crude glycerin on ruminal parameters, microbial yield, and *in vitro* greenhouse gases production in dairy cows. *Can J Anim Sci*; 96(4):461±5.
- Walter, A., F. Rosillo-Calle, P. Dolzan, E. Piacente and K. Borges da Cunha, 2008. Perspectives on fuel ethanol consumption and trade. *Biomass Bioenergy*, 32: 730-748.
- Wright, D.E., 1969. Fermentation of glycerol by rumen micro-organisms. *New Zealand J. Agric. Res.*, 12: 281-286.
- Wang, C., Q. Liu, W.Z. Yang, W.J. Huo and K.H. Dong *et al.*, 2009. Effects of glycerol on lactation performance, energy balance and metabolites in early lactation Holstein dairy cows. *Anim. Feed Sci. Technol.*, 151: 12-20.

