DETERMINACIÓN DE LA DIGESTIBILIDAD *IN VITRO* DE FORRAJES: COMPARACIÓN ENTRE EL PROCEDIMIENTO *DAISY-ANKOM* Y LA TÉCNICA CONVENCIONAL

O. BOCHI BRUM, S. LÓPEZ, J.S. GONZÁLEZ, F.J. OVEJERO

Departamento de Producción Animal. Universidad de León. 24071 LEÓN.

Introducción

La digestibilidad es uno de los principales componentes del valor nutritivo de los alimentos. La digestibilidad *in vitro* se utiliza como un estimador de la digestibilidad *in vivo*, y su principal interés radica en que permite establecer comparaciones entre alimentos. Además, las técnicas *in vitro* para estimar la digestibilidad son las únicas que pueden realizarse cuando se dispone de pequeñas cantidades de muestra.

Los métodos de laboratorio más utilizados para determinar la digestibilidad *in vitro* son los descritos por Tilley y Terry (1963) y por Goering y Van Soest (1970). Por otra parte, se han sugerido diversas modificaciones a estas técnicas, con el fin de mejorar la repetibilidad de las estimaciones de la digestibilidad y de reducir el tiempo experimental requerido para obtener la determinación. Recientemente se ha propuesto la realización de las incubaciones introduciendo la muestra en bolsitas confeccionadas con un material sintético poroso, e incubando varias bolsitas en un recipiente con líquido ruminal diluido (Procedimiento Daisy de Ankom Technology Corporation). Este procedimiento permite el análisis de un elevado número de muestras al mismo tiempo, y su realización es más sencilla en cuanto a la dosificación de líquido ruminal en condiciones de anaerobiosis y en cuanto a los procesos de lavado y filtración de los residuos de incubación. Este procedimiento ha sido utilizado para la determinación de la digestibilidad *in vitro* mediante la técnica de Goering y Van Soest (1970), pero no se dispone de información sobre la posibilidad de seguir dicho procedimiento para determinar la digestibilidad *in vitro* de Tilley y Terry.

El objetivo de este trabajo ha sido estudiar la validez del procedimiento *in sacco* (las incubaciones se realizan de forma que la muestra se encuentra en el interior de una bolsita de material poroso) para determinar la digestibilidad *in vitro* de acuerdo con la técnica de Tilley y Terry, comparándolo con el procedimiento convencional en el que las incubaciones se realizan en crisoles de forma que la muestra está en contacto directo con el líquido ruminal.

Material y métodos

Se utilizaron 12 muestras de forrajes, cuya descripción y contenido en fibra neutro detergente (FND) y en fibra ácido detergente (FAD) se presentan en la Tabla 1. Como puede apreciarse, se dispuso de una considerable variedad de forrajes tanto en su composición botánica, como en su composición química, con un amplio rango en el contenido en FND (394-862 g/kg MS) y FAD (201-545 g/kg MS).

Trabajo financiado por la Junta de Castilla y León (Proyecto LE 20/94)

TABLA 1.- Contenido en fibra de los alimentos		
Forraje	FND (g/kg MS)	FAD (g/kg MS)
Rebrotes de Brezo (*Erica arborea*)	561,7	475,1
Paja de cebada	826,4	480,0
Paja de centeno	861,8	545,1
Paja de garbanzos	654,5	468,2
Heno de prado permanente I	724,5	418,7
Heno de prado permanente II	638,2	357,2
Heno de trébol	575,3	412,9
Heno de veza-avena	627,4	349,6
Heno de prado permanente III	571,0	324,0
Heno de alfalfa	467,1	304,7
Heno de gramíneas	546,1	276,6
Pulpa de remolacha	394,3	201,5

Para las incubaciones se utilizó líquido ruminal obtenido de cuatro ovejas adultas alimentadas con heno de alfalfa. El líquido ruminal fue filtrado y añadido al medio de cultivo en una proporción de 1:4 (v/v). El medio de cultivo empleado fue el descrito por Goering y Van Soest (1970) que consiste en una mezcla de sales minerales en una disolución amortiguadora. La preparación del medio de cultivo y la adición de líquido ruminal se realizaron en condiciones de anaerobiosis. Se utilizó la misma mezcla de líquido ruminal-medio de cultivo para ambos procedimientos de digestibilidad *in vitro*. De acuerdo con el procedimiento convencional de Tilley y Terry, se utilizaron crisoles con placa filtrante en los que se pesaron 500 mg de muestra. En cada crisol se dosificaron 50 mL de líquido ruminal diluido y las incubaciones se realizaron a 39° C en un baño termostático con agitación continua. En el procedimiento *in sacco*, en cada bolsita se pesaron 500 mg de muestra. Las bolsitas se introdujeron en recipientes de vidrio de 4 L de capacidad (25 bolsitas en cada recipiente), añadiendo 2 L de líquido ruminal diluido. Los recipientes se introdujeron en un incubador con agitación continua en el que se mantiene una temperatura constante de 39° C. Tras 48 h de incubación, los crisoles y los frascos con las bolsitas se introdujeron en un baño de hielo para detener la fermentación. En el caso de los crisoles utilizados en el procedimiento convencional, se realizó una filtración, se añadieron 50 mL de una disolución ácida de pepsina (Tilley y Terry, 1963) y se incubaron en el baño termostático a 39° C. En cuanto al procedimiento *in sacco*, se extrajo el líquido ruminal de cada recipiente, y cada uno de ellos fue rellenado con 2 L de la misma disolución de pepsina, siendo posteriormente colocados en el incubador a 39° C. Tras otras 48 h de incubación para esta segunda fase, se realizó una nueva filtración en los crisoles con varios lavados de la muestra con agua destilada. Las bolsitas también fueron lavadas con agua destilada y finalmente crisoles y bolsitas se secaron a 55° C durante 48 h.

Para cada muestra se realizaron cuatro determinaciones de la digestibilidad *in vitro* por cada uno de los procedimientos descritos. Las determinaciones se llevaron a cabo en dos tandas de incubación en cada una de las cuales se utilizaron dos crisoles o dos bolsitas para determinar la digestibilidad *in vitro* de cada muestra.

Resultados y discusión

Los coeficientes de digestibilidad *in vitro* de la materia seca para cada forraje, determinados por el procedimiento convencional o mediante el procedimiento *in sacco* se presentan en la Tabla 2 (cada valor es la media de 4 observaciones ± error estándar de la media -ESM).

TABLA 2.- Digestibilidad *in vitro* de la materia seca

Forraje	Proc. convencional	Procedimiento *in sacco*
Rebrotes de Brezo (*Erica arbórea*)	25,44 ± 0,860	28,66 ± 0,248
Paja de cebada	46,90 ± 1,586	46,10 ± 1,800
Paja de centeno	50,33 ± 1,585	50,62 ± 0,420
Paja de garbanzos	52,85 ± 0,395	67,43 ± 0,263
Heno de prado permanente I	53,05 ± 0,432	53,74 ± 0,721
Heno de prado permanente II	59,61 ± 0,729	62,89 ± 0,625
Heno de trébol	60,33 ± 0,182	64,95 ± 0,952
Heno de veza-avena	60,67 ± 1,254	62,57 ± 0,978
Heno de prado permanente III	65,17 ± 0,551	69,89 ± 1,671
Heno de alfalfa	70,84 ± 0,460	77,40 ± 0,418
Heno de gramíneas	76,38 ± 0,479	79,91 ± 1,110
Pulpa de remolacha	88,22 ± 1,005	91,37 ± 0,721

Los valores de digestibilidad *in vitro* obtenidos mediante el procedimiento *in sacco* fueron en general (salvo para la paja de cebada) mayores que los obtenidos mediante el procedimiento convencional. Por término medio, la sobreestimación fue de un 6,7%; si bien la diferencia fue mayor en los forrajes de leguminosas (paja de garbanzos, alfalfa, trébol). Para cada forraje, los ESM fueron similares para los valores obtenidos con ambos procedimientos.

A pesar de esta diferencia, los valores obtenidos mediante ambos procedimientos mostraron una significativa correlación, con un valor de r = 0,97 y una pendiente de regresión lineal entre ambas variables de 0,923 (que no fue estadísticamente distinta de la unidad). El coeficiente de correlación por rangos de Spearman tuvo un valor de 0,941, indicando que el número de orden de cada forraje fue similar cuando se estableció su clasificación de acuerdo con los valores de digestibilidad obtenidos mediante ambos procedimientos. En este sentido, puede concluirse que el procedimiento *in sacco* permite obtener buenas estimaciones de la digestibilidad *in vitro* de los forrajes, ya que a pesar de las diferencias observadas con los valores obtenidos mediante el procedimiento convencional, la clasificación de los forrajes según su valor de digestibilidad es muy similar en ambos casos.

Referencias bibliográficas

Tilley, J.M.A. y Terry, R.A. 1963. A two-stage technique for the *in vitro* digestion of forage crops ***J. Br. Grassland Soc.*.. 18**: 104-111.

Goering, H.K. y Van Soest, P.J. 1970. ***Forage Fiber Analyses (Apparatus, reagents, procedures and some applications)*** pp. 12-15. Agriculture Handbook No. 379. USDA; USA.