ITEA (2003), Vol. Extra N.º 24. Tomo II, 696-698

ESTIMACIÓN DE LA DIGESTIBILIDAD INTESTINAL DE LA PROTEÍNA NO DEGRADADA EN RUMEN DE DIFERENTES SUPLEMENTOS PROTEICOS MEDIANTE MÉTODOS "IN SITU" E "IN VITRO"

Solanas E., Castrillo C., Balcells J., Fondevila M., Guada, J.A.
Departamento de Producción Animal y Ciencia de los Alimentos. Facultad de Veterinaria. 50013 Zaragoza

INTRODUCCIÓN

El valor de la proteína del alimento que llega sin degradar a duodeno depende en gran medida de su digestibilidad. Existen distintos métodos para la determinación de la digestibilidad de la proteína de la dieta que llega a duodeno. El más utilizado es el método "in situ" de las bolsas móviles (Peyraud *et al.*, 1988), pero no es aplicable de forma rutinaria y la desaparición de proteína de la bolsa no conlleva necesariamente la utilización de ésta por parte del animal (Hvelplund y Weisbjerg, 1998). Por ello se han desarrollado distintas metodologías alternativas "in vitro", siendo la más extendida la basada en la pre-digestión del residuo de incubación en rumen con HCl-pepsina, y una digestión posterior con pancreatina (Antoniewicz *et al.*, 1992; Calsamiglia y Stern, 1995).

El objetivo de este trabajo se centró en el estudio de la correlación existente entre los valores obtenidos "in situ" e "in vitro" en diferentes suplementos proteicos y el posible efecto de la extrusión sobre dicha relación.

MATERIAL Y MÉTODOS

Los suplementos utilizados fueron: haba de soja, haba de soja + maíz (75:25), altramuz, torta de soja y guisante, sin extrusionar y extrusionados. Se utilizaron 2 vacas frisonas canuladas en rumen y duodeno, que recibieron diariamente 4 kg de pienso, 2 kg de pajade cebada y 2 kg de heno de alfalfa. Las muestras fueron incubadas en el rumen durante 12 horas, en bolsas de nylon de 10x15 cm de superficie interna conteniendo 4-5 g muestra molida a 3mm, para obtener una cantidad de residuo no degradado de cada muestra y vaca suficiente para poder realizar las pruebas de digestibilidad posteriores.

Para determinar digestibilidad intestinal "in situ" (DIIS) de la proteína de los residuos de incubación en rumen (Pnd) se siguió la técnica de las bolsas móviles propuesta por Peyraud *et al.* (1988). A cada vaca se le introdujo en duodeno los residuos de degradación correspondientes a cada una de ellas, mediante bolsas de nylon de 50µm de poro de 6x5 cm (6 bolsas/muestra/vaca). A partir de la cantidad de nitrógeno inicial y residual, se calculó la digestibilidad intestinal (DIIS, % Pnd) y la proporción de proteína original del suplemento digerida en intestino (DIIS, % PB). La digestibilidad "in vitro" de la proteína de los residuos de incubación en rumen (DIIV, %Pnd y %PB) se determinó por duplicado siguiendo el método propuesto por Calsamiglia y Stern (1995), utilizando el HCl 0.01N en vez de ser 0.1N para la preparación de la solución de pepsina al objeto de obtener un pH de 2. El contenido en PB (N-Kjeldhal x 6,25) del pool de residuos de incubación en rumen de cada suplemento y vaca, de los residuos de digestibilidad "in situ" y del sobrenadante de las incubaciones in vitro se llevó a cabo según el protocolo propuesto por la AOAC (1990).

Los valores obtenidos por ambos métodos se compararon mediante análisis de regresión y test de valores pareados y se estudió el efecto del tipo de muestra y del tratamiento sobre las diferencias entre los métodos, mediante análisis de

varianza factorial. Las diferencias entre las medias se probaron utilizando el test de mínimas diferencias significativas (lsd). Todos análisis se realizaron siguiendo los procedimiento REG y GLM del paquete estadístico S.A.S (2000).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El valor medio de DIIS (%Pnd) para el conjunto de muestras fue superior ($p<0.001$) al de DIIV (%Pnd) (90.7±2.32 vs 77.3±4.56), siendo la correlación entre los valores individuales obtenidos con ambos métodos de 0.899 (Figura 1). Las diferencias entre métodos se vieron influenciadas por el tipo de muestra y por el tratamiento (Tabla 1), ya que sólo se manifestaron de forma significativa en los suplementos de haba de soja sin extrusionar. Cuando de la regresión entre métodos se eliminaron los datos correspondientes a las muestras de haba de soja sin extrusionar el coeficiente de regresión mejoró sustancialmente (r= 0.931). McNiven *et al.*(2002) también encontraron un empeoramiento de la relación entre métodos con el haba de soja, tal vez porque su alto contenido en grasa interfieren la digestibilidad "in vitro", al no utilizarse lipasas. Por ello al extrusionarla y romper las micelas de grasa (Mohamed *et al.*, 1998) se facilitaría la digestión, disminuyendo las diferencias entre ambos métodos.

Fig. 1 Regresión entre la DIIS (%Pnd) y la DIIV (%Pnd)

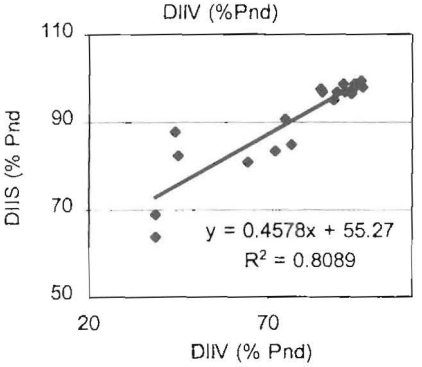


Fig. 2 Relación entre la degradabilidad de la proteína y las diferencias entre métodos

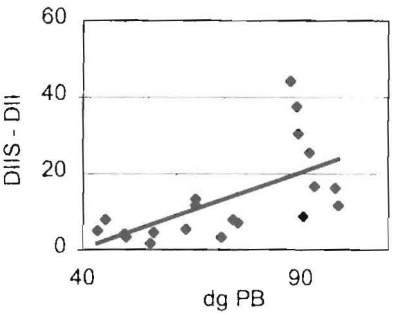


Tabla 1. Lsmeans, desviación estándar residual y grado de significación de los efectos suplemento y tratamiento sobre las diferencias DIIS-DIIV

		HabaS.	Haba S. + Maíz	Altram.	Torta	Guisant.	Ø	DER	Significación		
									Mues.	Tra	MxT
DIIS - DIIV (%Pnd)	NoExt.	27.95^{cA}	40.75^{bA}	12.67^{dA}	9.41^{dA}	13.94^{dA}	**20.94**	3.644	***	***	***
	Extrus.	9.96^{cB}	3.08^{dB}	5.30^{dA}	6.41^{cdA}	4.13^{dA}	**5.77**				
	Ø	**18.95^{b}**	**21.91^{b}**	**8.98^{c}**	**7.91^{c}**	**9.04^{c}**					
DIIS - DIIV (% PB)	NoExt.	2.70	4.86	1.03	3.27	0.28		0.935	*	ns	ns
	Extrus.	3.05	1.50	1.36	3.57	1.92					
	Ø	**2.87^{cb}**	**3.18^{cb}**	**1.19^{c}**	**3.42^{b}**	**1.10^{c}**					

Diferentes letras minúsculas dentro de una misma línea indican diferencias significativas entre muestras ($p<0.05$)

Diferentes letras mayúsculas dentro de una misma columna indican diferencias significativas ($p<0.05$) debidas a la extrusión;.DER = Desviación estándar residual;* ($p < 0.05$); ** ($p < 0.01$); *** ($p < 0.001$)

Como muestra la figura 2, las diferencias entre los valores de DIIS y DIIV fueron mayores cuanto mayor fue la degradabilidad en rumen de la proteína de los suplementos a estudio, lo que muestra que cuanto menor es la proporción de proteína que escapa de la degradación en rumen mayor es su resistencia al ataque enzimático, hecho que explica también las menores diferencias entre métodos observada con las muestras extrusionadas.

La subestimación cuantitativa de la digestibilidad del residuo de degradación en rumen, cuando se estima "in vitro" en relación a "in situ", también observada por otros autores (Antoniewicz *et al.*, 1992; McNiven *et al.*, 2002) puede deberse a la desaparición a través de los poros de las bolsas de proteínas no solubles que en la digestión "in vitro" se asumen como no digeridas (Antoniewicz et al., 1998). Calsamiglia y Stern (1995) no encontraron estas diferencias entre métodos, tal vez por utilizar una solución de HCl 0.1 N, en lugar de 0.01N utilizada en el presente estudio, que habría promovido una mayor digestión de la proteína (Antoniewicz *et al.*, 1998). En cualquier caso, el método "in vitro" fue capaz de detectar cambios en la digestibilidad debidos a la extrusión, ya que los efectos fueron cualitativamente iguales a los observados en la prueba "in situ", coincidiendo con los resultados de Calsamiglia y Stern (1995) y McNiven *et al.* (2002).

Cuando los resultados se expresaron como porcentaje de la proteína inicial del alimento (% PBI) no se observaron diferencias entre los métodos "in situ" e "in vitro"(26.1±4.22 vs 23.8±4.17, respectivamente), mostrando los valores obtenidos por ambos métodos una elevada correlación (r=0.931), debido a que la degradabilidad de la proteína, que fue común en ambos métodos, tiene un peso muy importante en el cálculo de la DI(%PB).

AGRADECIMIENTOS

Proyecto financiado por COTECNICA en el marco del proyecto CDTI- 00 0266. La extrusión se llevó a cabo en las instalaciones del Dpto. de Ciencia Animal de la ETSIA de Valencia

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Antoniewicz, A.M., Kosmala, I., van Vuuren, A.M., and van der Koelen, C.J., 1992. *Animal Feed Science & Technology* 39: 111-124.

Antoniewicz, A.M., Kosmala, I., Hvelplund, T., and van Vuuren, A.M.,1998. *British Society of Animal Science*. Occ. Pub.22. : 115-117.

AOAC., 1990. Official Methods of Analysis. 15th ed. Washington.

Calsamiglia, S., and Stern, M.D., 1995. *Journal Animal Science* 73: 1459-1465.

Hvelplund, T. and Weisbjerg, M.R., 1998. *British Society of Animal Science*. Occ. Pub. 22.: 131-144.

McNiven, M.A., Prestlokken, E., Mydland, L.T., Mitchell, A.W. 2002. *Animal Feed Science & Technology* 96: 1-14.

Mohamed, O.E., Satter, L.D., Grummer, R.R., and Ehle, R., 1998. *Journal Dairy Science* 71: 2677

Peyraud, J.L., Genest-Rulquin, C., Verité, R., 1988.*Reprod. Nutr. Dévelop.* 27: 129-130.

SAS., 2000. Statistical Analysis System Institute Inc. SAS/STAT. Version 8.Cary. NC.