

## **SIMULACIÓN *IN VITRO* Y *EX VIVO* DE LOS PROCESOS DE DIGESTIÓN PORCINA CON DIETAS INCLUYENDO DISTINTOS ADITIVOS NUTRICIONALES**

Amanzougarene<sup>1</sup>, Z., Pérez-Calvo<sup>2</sup>, E. y Fondevila<sup>1</sup>, M.

<sup>1</sup>Depto. Producción Animal y Ciencia de los Alimentos, Instituto Agroalimentario de Aragón (IA2), Universidad de Zaragoza-CITA, M. Servet 177, 50032 Zaragoza; <sup>2</sup>DSM Nutritional Products, Animal Nutrition and Health, Village Neuf, F-68128, Francia. mfonde@unizar.es

### **INTRODUCCIÓN**

Los métodos *in vitro* son una alternativa económica a los estudios *in vivo* que permite el control de las condiciones de valoración. La estimación enzimática de la digestión en estómago e intestino delgado se ajusta con precisión a los resultados *in vivo*. En estudios de fermentación, el contenido digestivo debe ser utilizado inmediatamente después de su obtención, limitando la aplicabilidad de la técnica. En rumiantes, Prates *et al.* (2010) propusieron un método de conservación del inóculo mediante congelación en N líquido, sin observar diferencias respecto al inóculo fresco. En este trabajo se compara la estimación enzimática de la digestión en estómago e intestino delgado con el uso de inóculo fresco *ex vivo*, y se valora la viabilidad de la congelación del inóculo de fermentación, como métodos aplicados al estudio de tres aditivos en ganado porcino.

### **MATERIAL Y MÉTODOS**

Como sustrato se emplearon muestras del pienso ofertado, solo (control) o con tres aditivos (CRINA TEP, 80 mg/kg; CRINA TMEC, 100 mg/kg y Vitamina B2, 100 mg/kg). Tres cerdos con un peso medio de 43,3 ± 3,56 kg, que habían recibido una dieta comercial sin aditivos durante 30 días, se sacrificaron y se les extrajo el contenido de estómago, intestino delgado y grueso. El contenido digestivo de las fracciones gástrica y de intestino delgado se filtró y se congeló hasta su utilización en pruebas de digestión *ex vivo*. La digestión enzimática en los tramos del tracto digestivo se simuló secuencialmente (Boisen y Fernández, 1997). Para las pruebas de fermentación, el contenido cecal se dividió en dos alícuotas de 320 mL; una se envasó en tubos de 16 mL, que se congelaron en N líquido y se almacenaron a -80°C (Prates *et al.*, 2010), y la otra se empleó inmediatamente como inóculo fresco en pruebas de fermentación. La fermentación *in vitro* de sustratos preincubados en pepsina-pancreatina se llevó a cabo durante 12 h (Theodorou *et al.*, 1994). Se determinó también la producción de ácidos grasos volátiles (AGV) y amoníaco a las 6 y 12 h. Los resultados se compararon por ANOVA, de una vía (con tratamiento como factor) para digestión en estómago e intestino delgado, y como Split Plot (método como plot y tratamiento como subplot) para fermentación en intestino grueso.

### **RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

Ambos métodos de estimación de la digestión gástrica (enzimático y *ex vivo*) mostraron diferencias entre tratamientos, con valores más altos para Vitamina B2 (P = 0,072 y P = 0,021, respectivamente), pero estas diferencias desaparecieron en intestino delgado (P > 0,10). La estimación enzimática de la digestión gástrica resultó numéricamente superior (medias de 0,726 ± 0,013 vs. 0,678 ± 0,020), pero las diferencias fueron mínimas a nivel de intestino delgado (0,802 ± 0,005 vs. 0,842 ± 0,021).

En los estudios de fermentación, los resultados obtenidos con inóculo fresco no difirieron de los observados con inóculo congelado (P > 0,05), aunque a las 4 h de incubación el volumen de gas con inóculo fresco tendió a ser superior (P = 0,081). Las diferencias entre tratamientos se manifestaron del mismo modo para ambos tipos de inóculo. No se observaron diferencias entre inóculos en la concentración de AGV o de amoníaco, a las 6 ni a las 12 h (P > 0,05).

### **CONCLUSIÓN**

En cerdos, los resultados de la simulación enzimática de la digestión en estómago e intestino delgado no difieren de los obtenidos *ex vivo*. La técnica de producción de gas aporta información sobre la evolución de la fermentación en intestino grueso. Para facilitar su aplicación, el inóculo vehiculado en pequeñas muestras y congelado en N líquido puede conservarse para posteriores incubaciones.

### **REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

- Boisen S. & Fernandez J.A. 1997. Anim. Feed Sci. Technol. 68: 277-286.
- Prates A. 2010. Anim. Feed Sci. Technol. 155: 186-193.
- Theodorou, M.K. 1994. Anim. Feed Sci. Technol. 48: 185-197.

**Agradecimientos:** Trabajo financiado por la empresa DSM Nutritional Products (OTRI 2018/0627).