

## UTILIDAD DEL HEXATRIACONTANO (C<sub>36</sub>) COMO MARCADOR DE TRÁNSITO DIGESTIVO, Y EFECTO DEL PROCEDIMIENTO ANALÍTICO SOBRE LA UTILIDAD DEL Cr-EDTA Y DEL YbCl<sub>3</sub> COMO MARCADORES DE FLUJO

Keli<sup>1,2</sup>, A., de Vega<sup>1</sup>, A., Askar<sup>1,3</sup>, A.R. y Guada<sup>1</sup>, J.A.

<sup>1</sup> Departamento de Producción Animal y Ciencia de los Alimentos. Universidad de Zaragoza. Facultad de Veterinaria. Miguel Servet, 177. 50013 Zaragoza. España. avega@unizar.es.

<sup>2</sup> Unité de Recherche sur les Productions Animales. INRA-Tanger. 78 Bd. Sidi Mohamed Ben Abdellah. 90000 Tánger. Marruecos. <sup>3</sup> Animal and Poultry Nutrition Department. Desert Research Center. P. O. Box 11753. El-Matareya, Cairo, Egipto.

### INTRODUCCIÓN

El tiempo de retención del alimento en los diferentes compartimentos del tracto digestivo de los rumiantes es uno de los factores que más afectan al lugar y a la tasa de digestión, y por tanto a la cantidad y tipo de nutrientes que llegan al duodeno (Ellis, 1978). Su conocimiento, por tanto, es fundamental en muchos de los estudios de nutrición llevados a cabo con este tipo de animales, y para este fin se ha sugerido la utilización de numerosas sustancias indicadoras (marcadores). Para la estimación de los parámetros de tránsito, la recuperación cuantitativa del marcador en las heces es deseable, aunque no esencial siempre que se mantenga constante durante el periodo de medición. Aunque la mayoría de los marcadores de fase líquida cumplen este requisito, los de fase sólida presentan una variabilidad mucho mayor, probablemente debida a las diferencias de densidad entre el indicador y la digesta, y a la capacidad de aquél de disociarse de esta última. En el caso de las estimaciones de flujo y de digestibilidad en diferentes tramos del tracto digestivo, es imprescindible que la recuperación de los marcadores a la salida de cada uno de ellos sea completa. El Cr-EDTA (fase líquida) y el YbCl<sub>3</sub> (fase sólida) son dos de los marcadores más utilizados en estudios de cinética digestiva, aunque últimamente se ha propuesto el uso de algunos alcanos de cadena larga como marcadores tanto de tránsito (Giráldez et al., 2006) como de digestibilidad ruminal (Askar et al., 2005). Además de por procesos de absorción y metabolismo, la recuperación de un determinado marcador puede estar también condicionada por el procedimiento analítico empleado para su determinación (Vicente et al., 2004). El objetivo del presente trabajo fue comprobar la utilidad del alcano C<sub>36</sub> como marcador de tránsito de la fase sólida de la digesta, así como el efecto del tipo de patrón utilizado en la calibración analítica sobre la concentración de Cr-EDTA y de YbCl<sub>3</sub> en el contenido de diferentes tramos del tracto digestivo, incluyendo las heces, y por tanto sobre las estimaciones de flujo a través de los mismos y sobre la recuperación fecal.

### MATERIAL Y MÉTODOS

Se utilizaron nueve ovejas de raza Rasa Aragonesa, adultas, vacías y secas (43,4±1,76 kg), que consumieron una ración a base de paja de cebada *ad libitum* y 186 g de grano de cebada (materia seca) con un 4% de urea. Tras un periodo de adaptación a la dieta de 14 días, durante el cual se fijó el nivel de ingestión de los animales al 95% de *ad libitum*, se realizó un balance de digestibilidad de una semana, tras tres días de adaptación a jaulas de metabolismo. El noveno día de adaptación a la dieta se administraron a tres animales dosis únicas de 50 ml de una solución de Cr-EDTA (2770 mg Cr/l), 100 ml de una solución de YbCl<sub>3</sub> (100 mg Yb/l) y 200 mg de C<sub>36</sub> (impregnados en 1,5 g de papel), tomándose posteriormente muestras de heces, directamente del recto, a intervalos crecientes de tiempo y durante cinco días, con el fin de estimar los parámetros de cinética de tránsito. Desde el primer día de adaptación a las jaulas de metabolismo, y durante todo el periodo de balance, se administraron, a todos los animales, dosis diarias de 120 ml de Cr-EDTA (100 mg/l) y de 120 ml de YbCl<sub>3</sub> (100 mg/l), distribuidas en seis alícuotas de 20 ml cada 4 horas. Terminado el balance se sacrificó a los animales, pesándose el contenido de abomaso, duodeno, ileon, ciego y ampolla rectal, que fue muestreado para el posterior análisis de Cr e Yb y la determinación del flujo a través de cada tramo digestivo. La determinación de Cr e Yb se llevó a cabo según el método propuesto por de Vega y Poppi (1997), usando dos patrones diferentes para establecer la curva de calibración: 1.- teniendo en cuenta el efecto de la matriz (MX, Vicente et al., 2004) o 2.- usando agua destilada (DW). Las curvas de excreción fecal de los marcadores de tránsito fueron ajustadas al modelo propuesto por Grovum y Williams (1973) con objeto de obtener los parámetros de cinética de tránsito en el tracto

digestivo. Los parámetros de cinética de tránsito, flujo a través de los diferentes tramos, y recuperación fecal de Cr e Yb obtenida a partir de la producción fecal registrada durante el periodo de balance, fueron sometidos a análisis de varianza utilizando el procedimiento GLM del paquete estadístico SAS (versión 8.01), y considerando el tipo de marcador, el patrón de calibración y la interacción entre ambos, según el caso, como fuentes de variación.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Aunque las concentraciones de Cr e Yb fueron superiores cuando se prepararon los patrones con la matriz correspondiente, este hecho no afectó ( $P>0,05$ ) ni a los ritmos fraccionales de tránsito lento ( $K_1$ ) y rápido ( $K_2$ ), ni al tiempo medio de retención total (TMRT) (Tabla 1). Comparado con Cr e Yb, el  $C_{36}$  proporcionó menores valores de  $K_1$  y mayores de TMRT ( $P<0,001$ ), que no difirieron entre aquéllos. Los valores de  $K_2$  fueron, a su vez, superiores ( $P<0,05$ ) con el Cr, sin aparecer diferencias ( $P>0,05$ ) entre Yb y  $C_{36}$ . A pesar de que se considera que el  $YbCl_3$  es un marcador de fase sólida, su comportamiento similar al del Cr-EDTA indicaría una asociación a las partículas más pequeñas, que se comportarían como solutos (Faichney, 1993).

Los flujos de digesta estimados con Cr e Yb estuvieron afectados por el tipo de patrón utilizado en la calibración analítica (Tabla 2), al igual que lo fue la recuperación fecal de ambos marcadores (Tabla 3) ( $P<0,001$ ). Utilizando el patrón MX, los flujos estimados con Cr e Yb fueron similares, mientras que usando el patrón DW se obtuvieron mayores valores con el Cr en todos los casos. Además, el uso del patrón DW condujo a la estimación de mayores flujos con ambos marcadores. La recuperación fecal de ambos marcadores (Tabla 3) fue similar y completa cuando fueron analizados utilizando el patrón MX para la curva de calibración, mientras que cuando se usó el patrón DW la recuperación fue incompleta en ambos casos, y de forma mucho más acusada en el caso del Cr.

De los resultados del presente trabajo se puede concluir que el empleo de patrones preparados con la matriz correspondiente en cada caso es imprescindible para la obtención de concentraciones fiables. Este hecho es importante para el cálculo de las recuperaciones fecales de los marcadores o para la estimación de los flujos de digesta, aunque tiene menos importancia cuando se estudia la cinética de tránsito, por estar los parámetros obtenidos basados en valores relativos (dependen de la pendiente de la curva de excreción fecal, y no de las concentraciones absolutas). Por otra parte, el alcano  $C_{36}$  parece ser un marcador de cinética de tránsito de la fase sólida mucho más adecuado que el  $YbCl_3$ .

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Askar, A. R., Guada, J. A., Balcells, J., de Vega, A. & Castrillo, C. 2005. *Anim. Sci.* 81: 57-65.
- de Vega, A. & Poppi, D. P. 1997. *J. Agric. Sci.* 128: 207-215.
- Ellis, W. C. 1978. *J. Dairy Sci.* 61: 1828-1840.
- Faichney, G. J. 1993. Quantitative aspects of ruminant digestion and metabolism. CABI, Wallingford. pp 53-85.
- Giráldez, F. J., López, S., Lamb, C. S. & Mayes, R. W. 2006. *Livest. Sci.* 100: 195-202.
- Grovum, W. L. & Williams, V. J. 1973. *Br. J. Nutr.* 30: 313-329.
- Vicente, F., Sarraseca, A., de Vega, A. & Guada, J. A. 2004. *J. Sci. Food Agric.* 84: 2035-2040.

**Tabla 1.** Ritmos fraccionales de tránsito lento ( $K_1$ ) y rápido ( $K_2$ ), y tiempo medio de retención total (TMRT) de Cr-EDTA,  $YbCl_3$  y  $C_{36}$  en función del patrón utilizado en la calibración analítica.

	Marcador (M)			SEM	Patrón (P)		SEM	Significación	
	$C_{36}$	Cr	Yb		MX	DW		M	P
$K_1$ ( $h^{-1}$ )	0,036 <sup>b</sup>	0,070 <sup>a</sup>	0,063 <sup>a</sup>	0,0043	0,059	0,054	0,0034	0,0006	0,3898
$K_2$ ( $h^{-1}$ )	0,093 <sup>b</sup>	0,135 <sup>a</sup>	0,070 <sup>b</sup>	0,0126	0,101	0,098	0,0103	0,0140	0,8264
TMRT (h)	61,80 <sup>a</sup>	25,69 <sup>b</sup>	29,39 <sup>b</sup>	3,630	37,92	40,00	2,964	<,0001	0,6317

<sup>a, b</sup> Superíndices diferentes indican diferencias estadísticamente significativas ( $P<0.05$ ) entre marcadores; SEM: error estándar de la media; MX: patrón preparado con matriz; DW: patrón preparado con agua destilada.

**Tabla 2.** Flujos de digesta (kg MS/día) estimados con Cr o con Yb, y teniendo en cuenta (MX) o no (DW) el efecto de la matriz en la preparación de los patrones de calibración.

Flujo	MX		DW		RSD	Significación		
	Cr	Yb	Cr	Yb		P	M	P*M
Abomasal	<sub>b</sub> 0,57	<sub>b</sub> 0,59	<sub>a</sub> 1,62 <sup>a</sup>	<sub>a</sub> 1,26 <sup>b</sup>	0,3168	<,0001	0,1210	0,0889
Duodenal	<sub>b</sub> 0,78	0,80	<sub>a</sub> 1,10 <sup>a</sup>	0,84 <sup>b</sup>	0,1124	<,0001	0,0042	0,0008
Ileal	<sub>b</sub> 0,45	<sub>b</sub> 0,46	<sub>a</sub> 0,91 <sup>a</sup>	<sub>a</sub> 0,70 <sup>b</sup>	0,1256	<,0001	0,0230	0,0112
Cecal	<sub>b</sub> 0,32	<sub>b</sub> 0,33	<sub>a</sub> 0,64 <sup>a</sup>	<sub>a</sub> 0,48 <sup>b</sup>	0,0494	<,0001	<,0001	<,0001
Fecal	<sub>b</sub> 0,34	<sub>b</sub> 0,34	<sub>a</sub> 0,52 <sup>a</sup>	<sub>a</sub> 0,39 <sup>b</sup>	0,0202	<,0001	<,0001	<,0001

<sup>a, b</sup> Superíndices diferentes indican diferencias estadísticamente significativas (P<0.05) entre Cr e Yb para un mismo patrón.

<sub>a, b</sub> Subíndices diferentes indican diferencias estadísticamente significativas (P<0.05) entre patrones para un mismo marcador; RSD: desviación estándar residual; P: patrón; M: marcador; MX: patrón preparado con matriz; DW: patrón preparado con agua destilada.

**Tabla 3.** Recuperación fecal (%) de Cr e Yb en función del patrón usado para la calibración analítica.

Marcador (M)	Patrón (P)		RSD	P	Significación	
	MX	DW			M	P*M
Cr	<sup>a</sup> 100,5	<sup>b</sup> 66,5 <sub>b</sub>	2,2928	<,0001	<,0001	<,0001
Yb	<sup>a</sup> 100,6	<sup>b</sup> 89,1 <sub>a</sub>				

<sup>a, b</sup> Superíndices diferentes indican diferencias significativas (P<0.05) entre patrones para un mismo marcador.

<sub>a, b</sub> Subíndices diferentes dentro de la misma columna indican diferencias significativas (P<0.05) entre marcadores para un mismo patrón; RSD: Desviación estándar residual; P: patrón; M: marcador; MX: patrón preparado con matriz; DW: patrón preparado con agua destilada.

### THE FEASIBILITY OF HEXATRIACONTANE (C<sub>36</sub>) AS TRANSIT MARKER, AND THE EFFECT OF ANALYTICAL PROCEDURE ON THE UTILITY OF Cr-EDTA AND YbCl<sub>3</sub> AS FLOW MARKERS

#### ABSTRACT

An experiment was performed to assess the feasibility of hexatriacontane (C<sub>36</sub>) as transit marker in ewes, and the effect of analytical procedure (standard preparation with blank digesta (MX) or with distilled water (DW)) on estimation of Cr and Yb concentrations in different segments of the gut, and its effect on digesta flow and on faecal recovery estimates. Although faecal concentrations of Cr and Yb were higher with MX, this did not affect slow rate of passage (K<sub>1</sub>), fast rate of passage (K<sub>2</sub>) or total mean retention time (TMRT) estimated from faecal marker excretion curves (P>0.05). However, there were lower K<sub>1</sub> and higher TMRT values for C<sub>36</sub> (P<0.001), with no differences between Cr and Yb. The values of K<sub>2</sub> were higher for Cr (P<0.05), with no differences (P>0.05) between Yb and C<sub>36</sub>. Digesta flows and faecal recoveries of Cr and Yb were affected by the standard type (P<0.001), MX leading to similar estimates of digesta flow with both markers (P>0,05). Values estimated with DW were significantly higher for Cr (P<0.05). Standard DW produced higher flow values than MX with both markers. Full recovery of Cr and Yb was obtained with MX, whereas recovery was much lower with DW, especially for Cr.

**Keywords:** markers, passage rate, digesta, analytical method.