

ESTUDIO DE LA CINÉTICA DE PRODUCCIÓN DE GAS DE LA PULPA DE REMOLACHA CON INÓCULOS ILEALES Y CECALES DE CONEJOS: COMPARACIÓN DE MODELOS

Abad-Guamán, R., Carro, M.D., Carabaño, R. y García, J.

Dpto. de Producción Agraria. E.T.S.I. Agrónomos. Ciudad Universitaria. 28040 Madrid
javier.garcía@upm.es

INTRODUCCIÓN

El efecto positivo de la fibra soluble/fermentable sobre la mucosa, la microbiota intestinal (Gómez-Conde et al., 2007; 2009) y la mortalidad en el post-destete (Trocino et al., 2013) podría estar relacionado con el proceso de degradación de la fibra a nivel ileal (Abad et al., 2013). Sin embargo, el tiempo de retención de la digesta en los tramos digestivos anteriores al ciego es reducido, lo que cuestiona la magnitud y relevancia de esta fermentación. La técnica de producción de gas *in vitro* podría ser útil para evaluar el potencial fermentativo en el intestino delgado en comparación con el ciego. Esta técnica implica el uso de modelos matemáticos para estimar los parámetros de fermentación, modelos que presentan diferencias de ajuste estadístico dependiendo de las condiciones experimentales y del tipo de sustrato, además de diferir en la interpretación biológica de los parámetros obtenidos. El objetivo de este trabajo fue analizar las diferencias entre modelos y sus implicaciones en la interpretación de los parámetros estimados en el caso de la pulpa de remolacha.

MATERIAL Y MÉTODOS

Las incubaciones *in vitro* se llevaron a cabo en botellas de 115 ml, en las que se pesaron 250 mg de materia seca de pulpa de remolacha. Las muestras se sometieron a una predigestión con proteasa y pancreatina (Ramos et al., 1992) y el volumen completo (sin filtrar) se utilizó como sustrato para su fermentación *in vitro*. Se utilizaron 3 inóculos de íleon y 3 de ciego, cada uno de los cuales se obtuvo mezclando el contenido ileal o cecal de 3 gazapos de 70 días de edad inmediatamente tras su sacrificio. Cada uno de los inóculos se mezcló con el medio de cultivo descrito por Goering y Van Soest (1970; sin tripticasa) en la proporción necesaria para aportar 62,5 mg en materia seca de inóculo por botella (250 mg de contenido cecal y 375 mg de íleon en materia fresca) y se dosificaron 25 ml de la mezcla en cada botella mediante una bomba peristáltica. Las botellas (2/inóculo) se incubaron a 39°C y se midió la producción de gas a las 2, 3, 4, 6, 8, 11, 15, 20, 25, 30, 35, 47, 59, 71, 95, 120 y 144 horas de incubación mediante un transductor de presión y una jeringa graduada, permitiendo la salida del gas tras cada medida. Los datos de producción de gas se ajustaron a un modelo logístico (Schofield et al., 1994) y a uno empírico (Groot et al., 1996), utilizando en cada caso uno (LOG y GROOT) y dos pooles (LOG₂ y GROOT₂). Para comparar los modelos se utilizó el error cuadrático medio (ECM) y la proporción de variabilidad explicada por los mismos (R²). Se hicieron regresiones entre los datos observados y los estimados por los modelos, para testar que la pendiente no fuese diferente de 1 a través de un test t.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los modelos explicaron gran parte de la variabilidad observada (R²>0,994; Tabla 1). Para ambos tipos de inóculo, el modelo LOG₂ fue el que minimizó el error cuadrático medio (Tabla 1 y Figura 1). Los modelos de doble pool se ajustaron mejor a los datos que los modelos de un único pool, con la desventaja de tener un mayor número de parámetros, lo que dificulta su interpretación biológica. El modelo GROOT tendió a subestimar la producción de gas en las primeras horas de incubación, que tienen especial interés en el conejo debido a los cortos periodos de retención de la digesta en los tramos digestivos anteriores al ciego. Por su parte, el modelo LOG₂ fue el que mejor estimó el volumen final de gas. Los otros modelos lo subestimaron con el inóculo cecal, mientras que con el inóculo ileal lo sobre o subestimaron aleatoriamente. En la regresión lineal entre los datos observados y los estimados por cada modelo las pendientes no fueron diferentes de 1, a excepción del modelo GROOT, y solo se obtuvieron términos independientes no diferentes de 0 en los modelos logísticos (LOG y LOG₂).

Tabla 1. Ecuaciones y valor promedio de los criterios de bondad de ajuste de los modelos comparados de cinética de producción de gas de la pulpa de remolacha¹

Modelos	Ecuaciones	Ciego		Íleon	
		ECM	R ²	ECM	R ²
LOG	$V(t) = Vf / (1 + \exp^{(2-4k(t-lag))}) + \mathcal{E}$	96,1	0,997	65,1	0,994
LOG ₂	$V(t) = Vf_1 / (1 + \exp^{(2-4k_1(t-lag))}) + Vf_2 / (1 + \exp^{(2-4k_2(t-lag))}) + \mathcal{E}$	21,3	0,999	17,9	0,998
GROOT	$V(t) = Vf / (1 + ((B/t)^c)) + \mathcal{E}$	81,9	0,997	81,5	0,990
GROOT ₂	$V(t) = Vf_1 / (1 + ((B_1/t)^{c_1})) + (Vf_2 / (1 + ((B_2/t)^{c_2})) + \mathcal{E}$	33,6	0,999	25,8	0,997

¹V(t)=producción de gas acumulado (ml) en un tiempo t; Vf= potencial máximo de producción de gas (ml); Vf₁=Volumen final derivado la fracción rápidamente fermentada (ml); Vf₂=Volumen final derivado de la fracción lentamente fermentable (ml); k=tasa de degradación (%/h); k₁=tasa de degradación de la fracción rápidamente fermentable; k₂=tasa de degradación de la fracción lentamente fermentable; t = tiempo de incubación (h); lag = tiempo de retraso en el inicio de la producción de gas (h); B=tiempo (h) en el que se produce la mitad del volumen de gas; c= valor positivo que cambia simultáneamente con B y determina la forma de la curva; \mathcal{E} = error experimental asociado a cada observación. ECM= Error cuadrático medio; LOG= modelo logístico con un pool; LOG₂= modelo logístico con doble pool; GROOT= Modelo de Groot et al. (1996) con un pool; GROOT₂= Modelo de Groot et al. (1996) con doble pool.

Las curvas acumuladas de producción de gas (Figura 1) muestran que en la fermentación de la pulpa de remolacha con los inóculos ileales se generó aproximadamente un 70% del gas que se produjo con los inóculos cecales. Además, los inóculos ileales necesitaron aproximadamente el doble de tiempo que los cecales para llegar a producir el volumen potencial de gas (2×B: 59 vs. 103 h; GROOT). Los parámetros estimados en los diferentes modelos (Tabla 2) indican que la pulpa de remolacha se degradó el doble de rápido con el inóculo cecal que con el inóculo ileal (k: 0,031 vs. 0,016; P=0,010) cuando se usó el modelo LOG. Sin embargo, cuando se utilizó el modelo LOG₂ no se observaron diferencias entre inóculos (ileales y cecales) en la velocidad de degradación de la fracción más rápidamente fermentable (k₁: 0,013 vs. 0,014), que estuvo asociada a una tendencia a una mayor producción de gas con el inóculo ileal que con el cecal (151 vs. 87,4 ml; P=0,095). Además, la mayor tasa de degradación ocurre en las primeras horas de fermentación (Figura 1). En las dos primeras horas de fermentación, la tasa de producción de gas con el inóculo ileal fue superior al cecal (9,35 vs. 5,4 ml/h; P=0,045). La fracción más lentamente fermentable con el inóculo ileal estuvo asociada a una menor producción de gas respecto al cecal (Vf₂: 38 vs. 181 ml; P<0,005). Estos resultados sugerirían que al inicio de la fermentación la microbiota ileal tendría una mayor actividad fermentativa en relación con la cecal. Sin embargo, el modelo LOG₂ asume que cada pool es fermentado independientemente (Schofield et al., 1994), lo que habría que confirmar en el caso de la pulpa de remolacha y podría alterar la interpretación de los parámetros.

Tabla 2. Parámetros estimados de los diferentes modelos comparados

Modelos	Inóculo	Parámetros (Media ± desviación estándar; n = 3)					
		Vf	K	Lag	Vf ₂	k ₂	
LOG	Íleon	183±7,92	0,016±0,001	10,4±0,961			
	Ciego	254±38,1	0,031±0,004	13,7±1,70			
LOG ₂	Íleon	Vf ₁ 151±5,37	k ₁ 0,014±0,001	Lag 16,5±1,97	Vf ₂ 38,0±1,83	k ₂ 0,139±0,070	
	Ciego	87,4±29,1	0,013±0,001	15,9±2,20	181±8,89	0,047±0,006	
GROOT	Íleon	Vf 232±9,05	B 51,3±2,29	C 1,62±0,049			
	Ciego	266±38,1	29,7±1,83	3,15±0,236			
GROOT ₂	Íleon	Vf ₁ 5,90±0,511	B ₁ 1×10 ⁻⁸	C ₁ 29,5±23,9	Vf ₂ 212±7,07	B ₂ 49,0±2,43	C ₂ 1,87±0,030
	Ciego	13,6±13,2	1×10 ⁻⁸	7×10 ⁻⁷	252±35,8	30,4±1,77	3,57±0,018

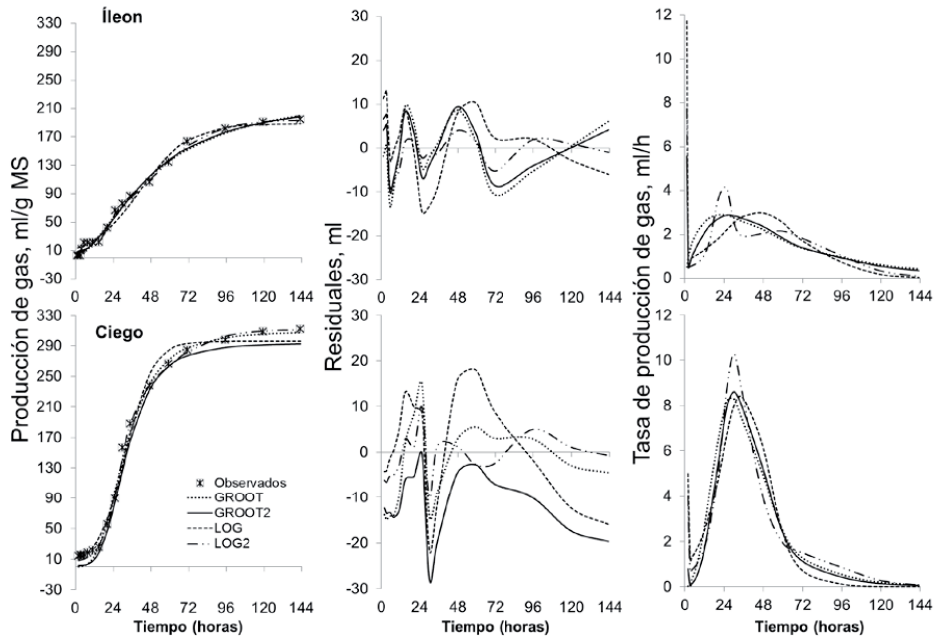


Figura 1. Curvas de producción de gas observada y modelada de un inoculo, residuos y tasa puntual de producción de gas para uno de los inóculos utilizados

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- Abad et al. 2013. World Rabbit Sci. 21:49.
- Goering, M.K. & Van Soest, P.J. 1970. Agri. Handbook, 379. Agricultural Research Services, USDA, Washington DC.
- Gómez-Conde et al. 2007. J. Anim. Sci. 85: 3313-3321.
- Gómez-Conde et al. 2009. Livest. Sci., 125: 192-198.
- Groot et al. 1996. Anim. Feed Sci. Technol. 64: 77-89.
- Ramos et al. 1992. World Rabbit Sci. 15: 938-946.
- Schofield et al. 1994. J. Anim. Sci. 72: 2980-2980.
- Trocino et al. 2013. World Rabbit Sci. 21: 1-15.

Agradecimientos: Proyectos AGL2011-22628 (MICINN) y MEDGAN ABI-2913 (Comunidad de Madrid). R. Abad-Guamán disfruta de una beca del SENESCYT-Ecuador.

MODELLING *IN VITRO* GAS PRODUCTION KINETICS OF SUGARBEET PULP INCUBATED WITH ILEAL AND CAECAL CONTENT FROM RABBITS

ABSTRACT: Sugar beet pulp was digested *in vitro* using protease and pancreatin and the final residue (with no filtering) was fermented *in vitro* using three different ileal and caecal inocula (each one combining the digesta of three 70 d old rabbits), respectively. In vitro gas production was measured and modeled using single and dual pool models (logistic and Groot model). Dual pool logistic model minimized mean square error both for kinetics using both ileal and caecal inocula. The slopes of the regressions between observed and predicted values for each model were not different from 1, except for single pool Groot model, and intercepts did not differ from 0 only for single and dual pool logistic models. Fermentation of sugar beet pulp using ileal inocula produced 70% of the gas obtained using caecal inocula. Sugar beet pulp fermented twice faster with caecal than with ileal inocula (k : 0.031 vs. 0.016; $P=0.010$) using a single pool logistic model. Dual pool logistic model indicated a faster gas production rate at the beginning of fermentation for ileal compared to caecal inocula.

Keywords: *in vitro* gas production, ileal and cecal fermentation, sugar beet pulp.