

EFFECTO DE LAS ENZIMAS EXÓGENAS SOBRE LA DIGESTIBILIDAD IN VITRO DE LA MATERIA SECA DE SUBPRODUCTOS FIBROSOS EN PORCINO: RESULTADOS PRELIMINARES

Ferrer, P. y Cerisuelo, A.

Centro de Investigación y Tecnología Animal, Instituto Valenciano de Investigaciones Agrarias, Castellón. Email: cerisuelo_alb@gva.es

INTRODUCCIÓN

El interés en el uso de subproductos fibrosos en alimentación porcina es cada vez mayor ya que ofrece ventajas a nivel económico, medioambiental y social. En este sentido, el uso de estos subproductos puede contribuir al abaratamiento del coste del pienso, influir en el volumen de excretas y emisiones de gases y reducir la competencia de la alimentación animal con la alimentación humana (Makkar, 2016; Ferrer *et al.*, 2018). Sin embargo, su composición química y valores de nutrientes digestibles puede ser muy variable y, a menudo, poco conocidos. Para poder utilizar un ingrediente de estas características con garantías en piensos es necesario disponer de una valoración nutricional correcta. Los ensayos de valor nutricional *in vivo* son, a menudo, caros y costosos por lo que poder desarrollar metodologías *in vitro* que nos permitan estimar de manera rápida y fiable el valor nutricional de estas materias primas puede resultar interesante. Por otro lado, la elevada y variada (a menudo compleja) cantidad de fibra que poseen estos ingredientes suele reducir su digestibilidad, en especial en animales monogástricos, como el cerdo. Estudios recientes demuestran que, el uso de enzimas exógenas puede mejorar el valor nutricional de materias primas fibrosas, como los subproductos agroindustriales fibrosos (Woyengo *et al.*, 2016). Sin embargo, esta mejora dependerá de las enzimas que se usen (carbohidrasas) y del tipo de sustrato (fibra). El objetivo de este estudio es adaptar la técnica de digestión *in vitro* desarrollada por Boissen y Fernández (1997), para testar el efecto de las enzimas exógenas en la digestibilidad de la materia seca (MS) de subproductos fibrosos. Concretamente en este trabajo se muestran resultados preliminares de la puesta a punto de la técnica.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se ensayaron un total de 5 materias primas (harina de camelina, torta de camelina, pulpa cítrica deshidratada, pulpa de aceituna parcialmente desengrasada y maíz) siguiendo la metodología descrita por Boisen y Fernández (1997), aplicando la tecnología de extracción por bolsas filtrantes Ankom mediante un equipo Daisy II incubator (Ankom Technology Corp., Macedon, NY, EE. UU.). Previamente al análisis de digestión *in vitro*, se analizó la composición de las materias primas (materia seca-MS, proteína, grasa y fibras). Posteriormente, cada una de las materias primas se sometió a tres tratamientos enzimáticos utilizando un complejo enzimático, Axtra™ XB 201 TPT (endo-1,4-beta-xilanasas 12200 U/g y endo-1,3(4)-beta-glucanasas 1520 U/g) de DuPont Industrial Biosciences: T1 (sin adición de enzima), T2 (adición de 0,10 kg enzima/tm materia prima) y T3 (adición de 0,20 kg enzima/tm materia prima). Se pesaron 0,5 g de muestra por bolsa, previamente molida a un tamaño de partícula de 1 mm y 6 bolsas/materia prima y tratamiento enzimático. La adición de la enzima se realizó en las jarras incubadoras del equipo Daisy II junto con el tampón fosfato y 1 ml/bolsa de la disolución de pepsina fresca (25 mg de pepsina de porcino, 0,7 FIP-Unidades/mg de proteína/ml de HCl 0,2 M). Las muestras se incubaron a 40°C durante 1,5 h simulando la actividad del estómago. Tras esta primera incubación, se agregaron 10 ml/bolsa de disolución de pancreatina fresca [100 mg de pancreatina (pancreatina de porcino, grado VI)/ml tampón de fosfato pH 6,8] y se realizó una segunda incubación a 40°C durante 3,5 h, simulando su paso por el intestino delgado. Después de la segunda incubación, el pH se ajustó a 4,8 mediante la adición de ácido acético y se añadió 0,5 ml/bolsa de Viscozyme (Viscozyme 120 L, 120 FBG/G, Novo-Nordisk). Posteriormente se realizó una tercera incubación a 40°C durante 16 h, simulando su paso por el intestino grueso. Tras cada incubación se retiraron 2 bolsas/ingrediente que se sometieron a diferentes lavados con acetona y se secaron a 103°C durante 24 h. Tras el desecado, las bolsas con el residuo no digerido se pesaron para calcular el porcentaje de digestibilidad *in vitro* (DIV) de cada ingrediente en cada incubación.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la Tabla 1 se muestran los resultados del análisis de las materias primas realizado. Como se puede observar, los subproductos de camelina sativa se caracterizan por su elevado contenido en proteína bruta (PB) y fibra neutro detergente, con valores de energía bruta (EB) entre 4.600 y 5.000 kcal/kg (en materia fresca) para la harina y la torta de camelina, respectivamente. El valor energético es superior en la torta debido al mayor contenido en grasa de este subproducto respecto a la harina. En cuanto a las pulpas analizadas, la pulpa de aceituna posee un mayor contenido en grasa y fibra que la pulpa de naranja, con valores de EB similares a la torta de camelina en el caso de la pulpa de aceituna y en torno a las 3.700 kcal/kg en el caso de la pulpa cítrica. Para la harina de maíz se han utilizado los valores publicados por FEDNA (2018). El contenido en lignina ácido detergente también es muy variable entre materias primas dependiendo del tipo de fibra que posea, desde muy fermentable (pulpa cítrica) hasta muy insoluble (pulpa de aceituna).

Tabla 1. Composición analizada (% en materia fresca) de las materias primas utilizadas en el sistema de digestión *in vitro*.

Ingrediente	Harina de camelina	Torta de camelina	Pulpa cítrica deshidratada	Pulpa de aceituna	Harina de maíz ¹
Materia seca	91,2	92,4	87,9	91,4	86,4
Proteína bruta	38,0	34,1	6,4	8,4	7,1
Grasa bruta	1,9	11,0	1,7	11,2	3,6
Fibra neutro detergente	36,2	32,4	17,6	37,9	7,9
Fibra ácido detergente	16,2	17,3	12,1	26,5	3,0
Lignina ácido detergente	4,0	4,5	1,8	15,6	0,9
Energía bruta	4639	5082	3654	5028	4347

¹Valores publicados en las Tablas FEDNA (2018)

Los valores de digestibilidad *in vitro* de la MS (DIV_{MS}) para los diferentes ingredientes y las incubaciones 2 (íleon) y 3 (heces) se muestran en la Tabla 2.

Tabla 2. Digestibilidad *in vitro* de la materia seca (DIV) de las materias primas ensayadas con diferentes dosis de enzimas exógenas (T1: sin enzimas, T2: 0,10 kg/tm y T3: 0,20 kg/tm).

Ingrediente	Harina de camelina	Torta de camelina	Pulpa cítrica deshidratada	Pulpa de aceituna	Harina de maíz
Incubación 2 (int. delgado)					
DIV – T1	0,343	0,366	0,575	0,596	0,684
EEM ¹ – T1	0,014	0,021	0,013	0,015	0,070
DIV – T2	0,392	0,384	0,603	0,613	0,686
EEM ¹ – T2	0,039	0,008	0,006	0,001	0,019
DIV – T3	0,414	0,386	0,607	0,623	0,762
EEM ¹ – T3	0,015	0,020	0,024	0,015	0,070
Incubación 3 (int. grueso)					
DIV – T1	0,596	0,651	0,882	0,648	0,855
EEM ¹ – T1	0,022	0,004	0,005	0,010	0,026
DIV – T2	0,629	0,652	0,881	0,637	0,855
EEM ¹ – T2	0,020	0,001	0,016	0,013	0,040
DIV – T3	0,666	0,713	0,893	0,652	0,877
EEM ¹ – T3	0,018	0,007	0,005	0,020	0,003

¹EEM: Error estándar de la media

Según los resultados de la tabla 2, la DIV_{MS} a nivel de heces es superior (0,3 puntos aproximadamente) a la DIV_{MS} en íleon en todas las materias primas. En cuanto a la magnitud de las digestibilidades, destaca la elevada digestibilidad de la harina de maíz, de la que más del 60% de la MS se digiere durante su paso por el intestino delgado. Este ingrediente se añadió al ensayo como ingrediente control ya que no se trata de un

subproducto fibroso. Para el resto de ingredientes (subproductos fibrosos) el coeficiente de digestibilidad a nivel de íleon fue menor, probablemente debido a su elevado contenido en fibra. Cuando se considera la digestibilidad total (heces), la digestibilidad de los subproductos sigue siendo menor a la del maíz con la excepción de la pulpa cítrica, que es superior (0,882 vs 0,855, respectivamente). Este resultado refleja la elevada fermentabilidad de su fibra que, al pasar por el intestino grueso, es utilizada por las enzimas microbianas (Beccaccia *et al.*, 2015). Sin embargo, la fermentabilidad del resto de materias primas parece ser menor debido al tipo de fibra que contienen (más lignificada) y el perfil de la materia prima (ingrediente energético o proteico). En cuanto al efecto de las enzimas exógenas, los resultados preliminares que se muestran en este estudio indican que en todas las materias primas la adición de un complejo multienzimático a base de carbohidrasas tiene potencial de mejora de la DIV_{MS}. En algunos ingredientes, como la harina de camelina o la pulpa cítrica, estas mejoras son notorias ya en la fase del intestino delgado. En la torta de camelina y el maíz, estas mejoras son más notorias en la fase del intestino grueso y, especialmente, a las dosis más altas de inclusión (0,200 kg/tm). Sin embargo, en el caso de la pulpa de aceituna, estas mejoras son muy bajas probablemente debido al hecho de que posee un tipo de fibra muy lignificada (Ferrer *et al.*, 2018) que no responde a las carbohidrasas utilizadas en este estudio.

En conclusión, la digestibilidad de la MS de los subproductos fibrosos testados en este estudio parece depender de factores como el tipo de fibra que poseen, el nivel del tracto digestivo en el que se encuentran y el perfil energético o proteico del ingrediente. Además, las posibilidades de mejora con la adición de enzimas varían según el ingrediente del que se trate. Es necesario realizar más estudios para corroborar de manera estadística estos datos y poder calcular índices de mejora con la adición de enzimas para cada materia prima.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Beccaccia, A., Calvet, S., Cerisuelo, A., Ferrer, P., García-Rebollar, P. & de Blas, C. 2015. Effects of nutrition on digestion efficiency and gaseous emissions from slurry in growing-finishing pigs. I. Influence of the inclusion of two levels of orange pulp and carob meal in isofibrous diets. *Anim. Feed Sci. and Tech.* 208:158-169.
- Ferrer, P., García Rebollar, P., Cerisuelo, A., Ibáñez, M.A., Rodríguez, C.A., Calvet, S. & De Blas, C. 2018. Nutritional value of crude and partially defatted olive cake in finishing pigs and effects on nitrogen balance and gaseous emissions. *Anim. Feed Sci. and Tech.* 236:131-140.
- Makkar, H.P.S. 2016. Broadening Horizons. *Animal nutrition: beyond the boundaries of feed and feeding.* Feedipedia, 31:1-5.
- Tablas FEDNA. 2018. Ed.: C. de Blas *et al.* Madrid • Woyengo, T.A., Patterson, R., Slominski, B.A., Beltranena, E. & Zijlstra, R.T. 2016. Nutritive value of cold-pressed camelina cake with or without supplementation of multi-enzyme in broiler chickens. *Poult. Sci.* 95 (10):2314-2321.

IN VITRO DRY MATTER DIGESTIBILITY OF FIBROUS BY-PRODUCTS USING EXOGENOUS ENZYMES: PRELIMINARY RESULTS IN PIGS

ABSTRACT: A study was conducted to evaluate the in vitro dry matter digestibility (DIV_{DM}) of 4 fibrous by-products: camelina meal, camelina cake, citrus pulp and olive cake. Maize meal was also evaluated as a control. Additionally, a complex of carbohydases was also used to evaluate its effects at different dosages (0, 0,100 and 0,200 kg/tm) on DIV_{DM}. The DIV_{DM} test was performed using a Daisy II equipment from Ankom in three phases (stomach, ileum and faeces). The DIV_{DM} differs among ingredients probably due to the amount and type of fibre and being the higher for maize meal, as expected. From the ileal to the fecal phases, DIV increased approximately 3 percentual points in all the ingredients. The effects of enzymes were variable among ingredients: in camelina meal and citrus pulp this were more visible during the ileal phase while for camelina cake and maize meal these effects are more relevant during the faeces phase. Olive cake was the one with a lowest response to enzymes. Thus, the DIV_{DM} of a fibrous by-product depends on its composition, position in the intestinal tract and the ingredient profile (energy o protein yielding) and the addition of exogenous enzymes.

Keywords: *in vitro* digestibility, pigs, fibrous by-products, enzymes.