



Métodos de avaliación de produtos ruminalmente protexidos

Neste estudo centrámonos nos distintos métodos que existen para calcular a biodisponibilidade dun produto, pois non só debemos procurar que esta sexa elevada senón que o seu cálculo se obteña a través dos métodos máis fiables, que analizamos a continuación.

Javier López

Xerente do Servizo Técnico de Ruminantes Sur de Europa
Animal Nutrition & Health Emena
Kemin Industries

INTRODUCCIÓN

Nos últimos anos asistimos a un incremento moi significativo da cantidade de leite que producen diariamente as vacas, pero, a medida que os rendementos produtivos van aumentando, tamén o fan as necesidades nutritivas, co que cómpre buscar ferramentas que nos axuden a satisfacer os crecentes requirimentos destes animais da maneira máis eficiente e precisa posible, co fin de

asegurar o seu benestar e a sostibilidade das explotacións.

No que á nutrición proteica se refire, debo cubrir os requirimentos de certos aminoácidos esenciais (metionina e lisina) e para iso é imprescindible a incorporación na dieta de produtos tecnolóxicos consistentes en metionina e lisina protexidos para evitar a degradación ruminal.

É por esta crecente demanda que nos últimos anos apareceron no mercado multitude de produtos con distintas tecnoloxías de encapsulación e, por tanto, con características técnicas moi diversas.

Para que este tipo de produtos teñan unha boa calidade deben ase-

gurar que unha alta porcentaxe do ingrediente activo pase ao rume sen sufrir degradación e que, ademais, presente unha posterior elevada dixestibilidade intestinal. Só con estas dúas características poderemos conseguir unha elevada “verdadeira biodisponibilidade” do aminoácido.

O termo ‘biodisponibilidade’ é clave para poder entender as diferenzas entre os produtos dispoñibles no mercado. É a cantidade de metionina ou lisina que é realmente dixerida e absorbida no intestino delgado e que é potencialmente utilizada polo animal por unidade de produto inxerido. Por exemplo, se dicimos que un produto de metionina ten un 50 % de biodisponibilidade, quere dicir que, por cada 100 g de produto, 50 serán absorbidos no intestino e están dispoñibles para ser utilizados polo animal.

Para que un produto sexa altamente biodisponible debe cumprir dous requisitos básicos:

1) Elevada porcentaxe de produto que atravesa o rume sen sufrir degradación ou alteración.

2) Que unha alta porcentaxe de produto sexa dixerida e absorbida no intestino. Este segundo aspecto é igualmente importante, xa que un produto pode estar ben protexido ante a degradación ruminal, pero non dixerirse posteriormente no intestino, co cal se excretaría en feces sen ser aproveitado polo animal.

Para conseguir unha elevada biodisponibilidade, os produtos deben posuír varias características técnicas:

1. Alta concentración do nutriente específico: AA
2. Elevada gravidade específica e tamaño de partícula adecuado a esa gravidade específica para que abandonen o rume canto antes e se minimize a degradación. Non é cuestión de sobreprotexer o produto, é un equilibrio entre o tipo e a cantidade de protección, en función do tempo que o produto estea en tránsito no rume co fin de asegurar a súa resistencia sen comprometer a súa posterior dixestión.

3. Recubrimento adecuado para resistir non só a degradación ruminal mencionada anteriormente senón que, ademais, deben resistir adecuadamente os distintos procesos e accións mecánicas que pode sufrir ao longo de todo o proceso, desde a inclusión inicial no alimento ata a inxestión por parte do animal (procesos de mesturado e tratamento en fábricas de penso ou Premix, estabilidade na ración final (TMR), mastigación polo animal...).

4. Daquela o nutriente esencial debe estar dispoñible canto antes no abomaso para poder garantir a súa máxima absorción no intestino delgado.

COMO CALCULAR A BIODISPOÑIBILIDADE DUN PRODUTO

A continuación centrarémonos nos distintos métodos que existen para calcular a biodisponibilidade dun produto, xa que non só debemos procurar que o produto que usamos teña unha elevada biodisponibilidade, ►►

► É IMPRESCINDIBLE A INCORPORACIÓN NA DIETA DE PRODUCTOS TECNOLÓXICOS CONSISTENTES EN METIONINA E LISINA PROTEXIDOS PARA EVITAR A DEGRADACIÓN RUMINAL

WWW.EMBRIOMARKET.COM

981 791 843 | 649 239 488



EmbrioVet



EmbrioMarket

CONSÚLTANOS
SIN COMPROMISO

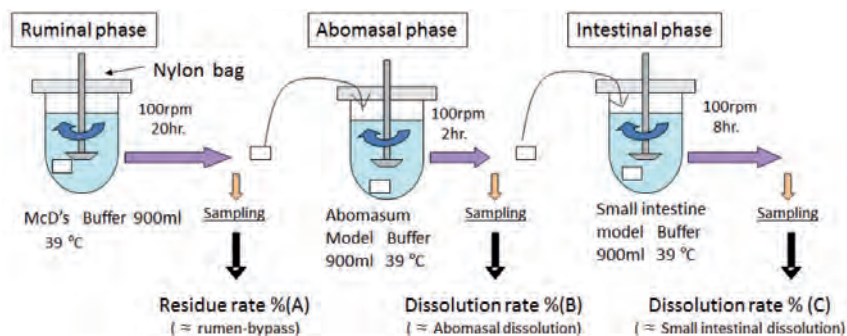


- EQUIPO AUTORIZADO EXPORTACIÓN ESIIET05B
- BANCO DE EMBRIONES
- LABORATORIO FIJO
- LABORATORIOS MÓVILES
- PROGRAMAS GENÉTICOS PERSONALIZADOS

- ASPIRACIÓN FOLICULAR (OPU)
- TRANSPORTE DE OVOCITOS
- FERTILIZACIÓN DE OVOCITOS (FIV)
- TRASLADO EN INCUBADORES
- TRANSFERENCIA EMBRIONES

- PROFESIONALIDAD
- INTEGRIDAD
- PROYECTOS ADECUADOS A TUS NECESIDADES
- SERVICIO COMPLETO EN TU EXPLOTACIÓN
- ESPAÑA Y PORTUGAL

Figura 1. Esquema de método in vitro de tres fases



Miura Makoto, comunicación persoal

ademais debemos asegurarnos de que o cálculo desta sexa obtido por un método o máis fiable posible, é dicir, que o dato que nos achegue o fabricante sexa o máis semellante á realidade como sexa posible. Para iso existen basicamente tres tipos de métodos: in vitro, in situ e in vivo.

Métodos in vitro

Os métodos in vitro son probas realizadas en laboratorio onde se simula un ambiente ruminal e intestinal para similar a degradación ruminal e a dixestibilidade intestinal. Algúns dos métodos utilizan líquido ruminal recollido de ovellas ou vacas, mentres que outras usan modificadores de pH para imitar o ambiente ruminal (Mbanzamihigo *et al.* 1997; Ross *et al.*, 2013; Miyazawa *et al.*, 2014; Larson *et al.*, 2015). Mbanzamihigo e col. (1997).

Nesta técnica incúbase o produto simulando un ambiente ruminal durante un tempo fixo, a continuación simúlase un ambiente abomasal e, por último, un ambiente intestinal para valorar a liberación nesta fase.

Estes métodos son moi utilizados porque son rápidos, sinxelos e económicos, pero non nos facilitan un dato fiable sobre biodisponibilidade; entre outros aspectos, non teñen en conta a taxa de paso dos distintos produtos, xa que presentan un tempo fixo de incubación. Outras limitacións significativas son que non teñen en conta as diferenzas entre animais e que consideran que todos os AA presentes na fase intestinal son absorbidos polo animal.

Este método é unha boa ferramenta nas primeiras fases de desenvolvemento dun produto, para discriminar entre produtos en función dos devan-

ditos resultados in vitro. Se un produto só nos ofrece datos in vitro, debemos ter en conta as súas moitas limitacións e a baixa precisión coa que traballariamos na nosa formulación.

Métodos in situ

Os métodos in situ consisten na incubación ruminal a través de cánulas ruminais de bolsas de nailon xeralmente a un tempo fixo (dependendo do ingrediente pode ser 6, 8, 16 ou 24 horas). Unha vez transcorrido este tempo, retíranse do rume e lávanse con auga fría ata que saia limpa. Posteriormente transfírense a un recipiente que contén HCL-pepsina a 39 °C e aí mantéñense durante 2,5 horas para simular as condicións do abomaso. Posteriormente métense en bolsas máis pequenas e introdúcense no duodeno a través dunha cánula intestinal. As bolsas recupéranse nas feces e lávanse ata que a auga saia limpa e a biodisponibilidade calcúlase como porcentaxe de AA que escapa ao rume x porcentaxe de AA que desaparece no intestino.

Este método, aínda que é máis fiable que o in vitro, segue tendo considerables limitacións:

- Non estima o rozamento contra as paredes do rume.
- Non simula os tempos reais de paso polo rume (diferentes entre produtos).
- Non estima a mastigación nin a rumiación.
- Non mide a dixestibilidade intestinal. Pode sobrevalorala debido a que esta se mide como a diferenza entre a cantidade que pasa o rume, menos a cantidade que aparece en feces, sen ter en conta que parte do produto pode non ser absorbido no intestino delgado.

▶ SE DICIMOS QUE UN PRODUTO DE METIONINA TEN UN 50 % DE BIODISPONIBILIDADE, QUERE DICIR QUE, POR CADA 100 G DE PRODUTO, 50 SERÁN ABSORBIDOS NO INTESTINO E ESTÁN DISPONIBLES PARA SER UTILIZADOS POLO ANIMAL

Métodos in vivo

Os métodos in vivo son os máis fiables e teñen a vantaxe de que proporcionan estimacións reais de biodisponibilidade nos animais para os que están destinados, xa que se realizan en condicións de campo. Dentro deste tipo de métodos, nesta publicación centrarémonos nos tres máis comúns:

-Área baixo a curva (Robert *et al.*, 1997; Graulet *et al.*, 2005; Devillard *et al.*, 2011; Faivre *et al.*, 2013; Evans *et al.*, 2013)

-Resposta de AA libre en plasma (Rulquin e Kowalczyk, 2003; Borucki Castro *et al.*, 2008; Hanigan *et al.*, 2009)

-Resposta de AA libre en plasma (Whitehouse, 2017)

Método área baixo a curva

Este método utiliza vacas lactantes ou secas canuladas ruminamente, que foron adaptadas con catéteres xugulares para extracción de sangue. Tómanse mostras de sangue iniciais antes da suplementación con AA, xeralmente ás -24, -12, -6 e 0 h co obxectivo de establecer valores base para a concentración plasmática da proba AA. Os animais reciben os tratamentos AA como unha dose de pulso. Para o tratamento de ▶



KESSENT[®]

INSPIRING SUSTAINABLE FARMING



ESTAMOS INTRODUCIENDO
NUESTROS NUEVOS
SUPLEMENTOS DE METIONINA
DE DESARROLLO PROPIO PARA
UN MEJOR EQUILIBRIO
DE AMINOÁCIDOS

Kemin se enorgullece
de liderar el camino con
la mayor biodisponibilidad
de metionina del mercado.



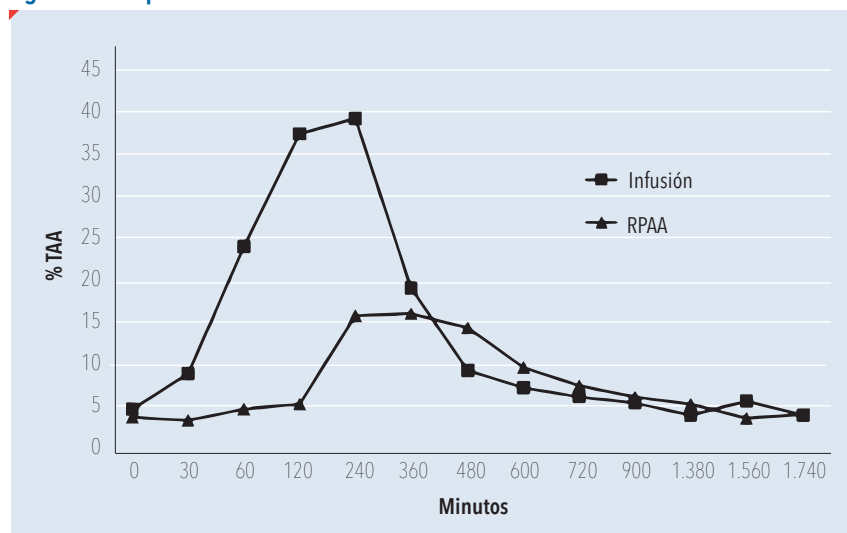
www.kemin.com/kessent

KEMIN[®]

La gama de productos KESSENT estará disponible en el mercado a partir del 1 de enero de 2020.

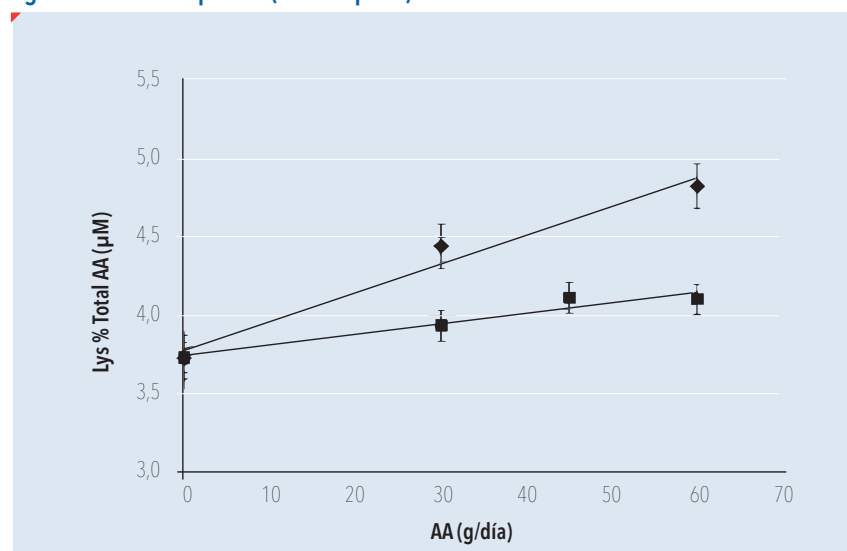
© 2019 Kemin Industries, Inc. y su grupo de empresas. Todos los derechos reservados. ® Marcas de Kemin Industries, Inc., EE.UU.

Figura 2. Exemplo de área baixo a curva



▶ OS MÉTODOS IN VIVO SON OS MÁIS FIABLES E TEÑEN A VANTAXE DE QUE PROPORCIONAN ESTIMACIÓNS REAIS DE BIODISPOÑIBILIDADE NOS ANIMAIS PARA OS QUE ESTÁN DESTINADOS

Figura 3. AA libre en plasma (dose-resposta)



control positivo, o AA adminístrase mediante infusión abomasal. O aminoácido protexido (RPAA) é xeralmente proporcionado como unha dose en bolo a través da cánula ruminal. Para a infusión, a dose completa de AA é infundida dentro das primeiras 2 h do período de recolección de sangue. Logo tómanse mostras xeralmente cada 1 ou 2 h durante as primeiras 14 horas, despois menos frecuentes ata 48 ou 72 h, tras a dosificación para garantir que haxa un retorno ás concentracións de referencia. Todas as mostras de plasma son analizadas para o AA de interese. Os valores de referencia para cada vaca promédianse xuntos e réstanse os valores obtidos despois da suplementación (Graulet *et al.*, 2005). A resultante dos valores gráfícase e a análise

de área baixo a curva trapezoidal elemental realízase multiplicando a media da concentración de AA, que aumenta entre 2 tempos de mostraxe consecutivos e a duración do intervalo. A área baixo a curva total é a suma da área baixo a curva elemental calculado (Graulet *et al.*, 2005).

Unha das principais limitacións da área baixo a curva é que os animais reciben unha gran dose (pulso) tanto de RPAA coma de tratamentos de infusión, cantidades que se atoparían en condicións normais de alimentación. Outra limitación é que o animal non consome o RPAA exposto ao TMR. A dose de pulso en xeral deposítase directamente a través da cánula ruminal no rume ao nivel da fase líquida xusto debaixo do material fibroso (Graulet *et al.*,

2005), o que probablemente resulte en que flúa fóra do rume máis rápido que se se alimentase en condicións normais. As estimacións de biodisponibilidade están relacionadas linealmente coa cantidade de dose de pulso, con doses máis altas téñense concentracións de AA máis altas en plasma sanguíneo (Graulet *et al.*, 2005; Evans *et al.*, 2013).

Resposta de AA libre en plasma

O método de resposta á dose de AA libre de plasma é un método máis directo porque identifica cambios nas concentracións plasmáticas de AA a medida que se fornecen cantidades crecentes dun AA. Un dos criterios para o método de resposta á dose de AA libre de plasma é que exista unha relación lineal entre as cantidades de

Táboa 1. Recomendacións para determinar a biodispoñibilidade relativa (RBV) dos suplementos de AA protexidos co rume (RP-AA) utilizando a técnica de dose-resposta AA sen plasma

Deseño experimental	Cadrado latino replicado con todos os tratamentos no mesmo cadrado para minimizar a variación.
Os animais	Vacas leiteiras con lactación canulada ruminalmente, preferiblemente con DMI e DIM similares. Evite as vacas na lactación temperá debido ao balance negativo de enerxía e proteínas.
Dieta basal	Unha TMR balanceada para cumprir cos requisitos nutricionais dos animais alimentados 3 veces ao día en intervalos de 8 h.
Período de covarianza	Recolla mostras de leite e de sangue durante os 3 días do período de covariable para obter datos de referencia.
Tratamento	Recoméndase o uso de 3 cantidades (por exemplo, 0, 30 e 60 g/d) de AA con infusión abomasal ou duodenal e as mesmas cantidades de AA alimentados cos suplementos de RP-AA.
Infusión	Mesture e disolva o AA nun mínimo de 4 L de auga morna da billa, e infunda continuamente no abomaso ou duodeno. As velocidades de infusión da bomba deben controlarse regularmente para garantir unha administración diaria uniforme e completa da infusión.
Alimentación RP-AA	Mesture RP-AA con 1,5 kg de TMR, colóqueo nun recipiente de plástico con tapas e almacéneo a 4 °C durante 8 h antes da alimentación para expor os suplementos probados a condicións TMR. Coloque a mestura TMR/RP-AA en cubas de goma e ofrézalle ás vacas 30 minutos antes da hora de alimentación real. Se a mestura non se consome por completo en 15 minutos, coloque as sobras directamente no rume cunha cánula.
Duración do período	Mínimo de 7 d.
Mostra de sangue	Recolla 4 mostras de sangue (veas coccíneas ou xugulares) a intervalos de 2 h logo da alimentación matutina durante os últimos 3 días de cada período de mostraxe.
Análise atípica	Realice unha análise univariada para determinar valores atípicos na concentración plasmática de AA, incluído AA.
Cálculo de RBV	Divida a pendente do suplemento alimentado por RP-AA pola pendente do AA infundido e multiplíque por 100.

AA alimentado ou infundido e a concentración de AA no plasma (a medida que se aumenta a dose de AA fornecido, debe incrementarse a concentración dese AA en plasma sanguíneo). Esta linealidade demostrouse tanto entre rangos de deficiencia de AA coma en rangos con achegas superiores aos requirimentos.

Este método consiste en avaliar as cantidades de AA libre en plasma sanguíneo, a medida que imos aumentando as cantidades de AA fornecidas. Faise unha infusión de auga no duodeno como grupo control, para coñecer os niveis basais de AA. Logo fórnécense infusións de AA ao duodeno para calibrar unha curva para cada animal, despois dúas veces ao día colocáronse os RPAA en niveis similares aos que se infunden ao duodeno. Tomáronse mostras de sangue cada hora durante doce horas o último día de cada tratamento (día 4). Neste día alcánzase unha concentración estable de AA que non varía despois.

A forza deste método, en comparación con outros, é que proporciona valores obtidos de animais.

Na gráfica 3 podemos observar os incrementos de concentración de AA a medida que aumentamos a suplementación. A curva con maior pendente representa o crecemento na concentración de AA a medida que incrementamos a cantidade de AA infundido e

a de menor pendente representa o aumento na suplementación de aminoácido ruminalmente protexido. A relación entre ambas as pendentes representa a biodispoñibilidade relativa do produto obxecto de estudo.

Resposta de AA libre en plasma (Whitehouse, 2017)

Este método é unha evolución do método anterior proposto por Rulquin e Kowalczyk, 2003. É na actualidade o método máis fiable dispoñible, xa que para a súa execución presenta uns requisitos moito maiores que o anterior; aínda que só algunhas universidades de referencia teñen esta técnica implementada e dispoñible. Doutra banda, require dun elevado investimento que só empresas moi rigorosas e moi seguras da calidade dos seus produtos se atreven a acometer. Na táboa 1 explícanse os principais puntos que deben cumprirse para testar un produto baixo este método.

CONCLUSIÓNS

Decidimos dar o paso e formular con base nos aminoácidos, preparámonos concienzudamente e entendemos o concepto. Agora enfrontámonos ao momento de tomar a decisión de comprar un determinado produto de AA protexido ruminalmente para cubrir as necesidades que o meu

sistema me demanda. O máis importante é non só ter en conta a biodispoñibilidade que declara o fabricante, senón tamén os métodos de validación desa biodispoñibilidade.

Tal e como comentamos, o método máis fiable é este último, pero, dado que é moi caro e laborioso, non todas as compañías asumen o risco que iso leva, co que deciden non avaliar co máximo rigor ou non someter a calidade os seus produtos aos máis estritos criterios científicos. ■



De izquierda a derecha: madre de PRINCE: ABS 7484 Anna-ET GP-84 (Beth Herges), 5ª madre de KINETIC: Clear-Echo M-O-M 2150-ET VG-8, hermana completa de la madre de CAMARO: De-Su Frazzled 6984-ET (Beth Herges) y hermana completa de SHIMMER*RC: K&L SV SUNNY



ABS PROGENEX, C/ Rafael Bergamín 16A, local 4, 28043 - Madrid

Email: ABS-Progenex@genusplc.com

Teléfono: 91 483 49 30 - Fax: 91 510 09 89

ABS REPRESENTA LA Nueva ERA EN SEMEN SEXADO

¡Sexcel® Sexed Genetics combina nuestra
tecnología de vanguardia con la genética líder
del sector para ofrecerle los mejores resultados!



29H019010

PRINCE

YODA x YODER x EMBASSY

+846 +2890
C M \$ G T P I®

29H019309

KINETIC

KENOBI x ACHIEVER x SPARK

+1949 +2867
L E C H E G T P I®

29H019302

CAMARO

CRIMSON x FRAZZLED x DELTA

+785 +2830
N M \$ G T P I®

29H017442

SHIMMER*RC

SALVATORE RC x RUBICON x CASHCOIN

+1801 +1,98
L E C H E T I P O



7 (Beth Herges),
RED (Alex Arkink)

POWERED BY
IntelliGen
TECHNOLOGIES