

**UNIVERSITAT AUTÒNOMA DE BARCELONA**

**Facultat de Veterinària**

**EFECTO DE LA FERMENTACIÓN MICROBIANA EN  
EL INTESTINO GRUESO SOBRE LA DIGESTIÓN,  
ABSORCIÓN Y UTILIZACIÓN DE NUTRIENTES:  
COMPARACIÓN ENTRE EL CERDO LANDRACE Y  
EL IBÉRICO**

Joaquín Morales Peñacoba  
2002

UNIVERSITAT AUTÒNOMA DE BARCELONA

Facultat de Veterinària

EFFECTO DE LA FERMENTACIÓN MICROBIANA EN EL  
INTESTINO GRUESO SOBRE LA DIGESTIÓN,  
ABSORCIÓN Y UTILIZACIÓN DE NUTRIENTES:  
COMPARACIÓN ENTRE EL CERDO LANDRACE Y EL  
IBÉRICO

Tesis Doctoral Presentada por JOAQUÍN MORALES PEÑACOBÀ

Bajo la direcci3n de DR. JOSÉ F. PÉREZ HERNÁNDEZ  
y DRA. MARIA D. BAUCCELLS SÁNCHEZ

Para acceder al grado de Doctor en el programa de Producci3n  
Animal del Departament de Ciència Animal i dels Aliments.  
Universitat Autònoma de Barcelona  
Bellaterra, 2002

**José F. Pérez Hernández y María D. Baucells Sánchez**, Profesores Titulares del Departament de Ciència Animal i dels Aliments de la Facultat de Veterinària de la Universitat Autònoma de Barcelona

CERTIFICAN:

Que la memoria titulada “Efecto de la fermentación microbiana en el intestino grueso sobre la digestión, absorción y utilización de nutrientes: Comparación entre el cerdo landrace y el Ibérico” presentada por Joaquín Morales Peñacoba para optar al grado de Doctor en Veterinaria, ha sido realizada bajo su dirección y, considerándola acabada, autorizan su presentación para que sea juzgada por la comisión correspondiente.

Y para que así conste, firman la presente en Bellaterra, a 22 de Octubre de 2002.

Dr. José F. Pérez Hernández

Dra. María D. Baucells Sánchez

La realización de la presente tesis doctoral ha sido posible gracias a la financiación del proyecto CYCIT AGF98-0506, y a la concesión de una beca predoctoral de formación de personal de investigación del Ministerio de Educación y Cultura.

## INDICE

	Página
<b>CAPÍTULO 1 – REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA</b>	1
<b>1.1 INTRODUCCIÓN Y PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA</b>	3
<b>1.2 CARBOHIDRATOS: DIGESTIÓN Y METABOLISMO</b>	7
<b>1.2.1 Composición y características de los carbohidratos</b>	7
<i>Principales compuestos de los carbohidratos</i>	8
<i>Azúcares de bajo peso molecular</i>	8
<i>Almidón</i>	9
<i>Polisacáridos no amiloideos (PNA)</i>	9
<b>Técnicas analíticas para la determinación de los carbohidratos</b>	11
<b>1.2.2 Digestión de los carbohidratos</b>	14
<b>Digestión en el intestino delgado</b>	14
<i>Almidón resistente</i>	16
<b>Digestión en el intestino grueso</b>	19
<i>Población microbiana</i>	20
<i>Substratos fermentados</i>	20
<i>Productos de la fermentación</i>	23
<i>Caracterización analítica de la flora microbiana</i>	26
<b>1.2.3 Absorción y utilización metabólica de los nutrientes</b>	27
<b>Absorción y destino de los monosacáridos</b>	27
<b>Absorción y destino de los productos de fermentación</b>	29
<b>1.3 DEPÓSITOS GRASOS DE LA CANAL DEL CERDO</b>	32
<b>1.3.1 Balance de la energía ingerida</b>	32
<b>1.3.2 Origen de los depósitos grasos del cerdo</b>	33
<b>Depósito directo</b>	34
<b>Síntesis endógena</b>	36
<b>1.3.3 Composición de la grasa del cerdo</b>	40
<i>Tejidos adiposos</i>	40
<i>Grasa intramuscular</i>	42
<b>1.3.4 Factores que modifican el contenido graso de la canal</b>	44
<b>Factores intrínsecos</b>	44
<i>Edad o estado de desarrollo</i>	44
<i>Sexo</i>	46
<i>Determinación genética</i>	46

<b>Factores extrínsecos</b>	49
<i>Alimentación</i>	49
<i>Régimen de alimentación</i>	49
<i>Grasa</i>	50
<i>Proteína</i>	51
<i>Carbohidratos</i>	51
<b>CAPÍTULO 2 – OBJETIVOS Y PLANTEAMIENTO EXPERIMENTAL</b>	55
<b>CAPÍTULO 3 – Comparative digestibility and lipogenic activity in Landrace and Iberian finishing pigs fed ad libitum corn- and corn-sorghum-acorn based diets.</b>	61
<b>CAPÍTULO 4 – Large bowel fermentation of corn or sorghum-acorn diets fed as a different source of carbohydrates to Landrace and Iberian pigs.</b>	81
<b>CAPÍTULO 5 – Digestibilidad comparada entre cerdos Ibéricos y Landrace alimentados con maíz o bellota y sorgo.</b>	103
<b>CAPÍTULO 6 – Microbial caecal fermentation in Iberic or Landrace pigs given acorn/sorghum or maize diets estimated in vitro using the gas production technique.</b>	119
<b>CAPÍTULO 7 – Body fat content, composition and distribution in Landrace and Iberian finishing pigs fed ad libitum corn- and corn-sorghum-acorn based diets.</b>	141
<b>CAPÍTULO 8 – DISCUSIÓN GENERAL</b>	163
<b>CAPÍTULO 9 – CONCLUSIONES</b>	183
<b>CAPÍTULO 10 – REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b>	187

## **ABREVIATURAS UTILIZADAS**

AG: ácidos grasos

AGMI: ácidos grasos monoinsaturados

AGPI: ácidos grasos poliinsaturados

AGS: ácidos grasos saturados

AGV: ácidos grasos volátiles

BP: bases púricas

CHO: carbohidratos

ELN: extractivos libres de nitrógeno

FAD: fibra ácida detergente

FB: fibra bruta

FND: fibra neutra detergente

LAD: lignina ácido detergente

MO: materia orgánica

MS: materia seca

MZ: dieta maíz

PCR: reacción en cadena de la polimerasa

PL: fosfolípidos

PNA: polisacáridos no amiláceos

PNC: polisacáridos no celulósicos

PV: peso vivo

RS: almidón resistente ("resistant starch")

SB: dieta sorgo y bellota

TG: triglicéridos

UFC: unidades formadoras de colonias

# **CAPÍTULO 1**

## **REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA**

---



## 1.1. INTRODUCCIÓN Y PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Existen numerosas definiciones de calidad, aunque no todas aplicables a los productos cárnicos. De forma general, se puede definir la calidad como la capacidad de un producto o servicio para satisfacer las expectativas de los consumidores. En el caso concreto de la carne y sus productos derivados, el concepto de calidad debe incluir consideraciones de tipo sensorial, nutricional, higiénico y tecnológico. Los parámetros que definen la calidad de la carne de cerdo pueden ser múltiples. Los más importantes incluyen el color del músculo, la firmeza y textura, el contenido de grasa intramuscular y la palatabilidad de la carne (terneza, jugosidad y “flavour”), además de otros factores que afectan a diferentes aspectos de la seguridad alimentaria (revisado por Cannon *et al.*, 1995).

Los progresos logrados por la producción porcina en España durante las últimas décadas han sido notables, hasta conseguir cubrir con solvencia la demanda global de la población a un precio razonable. Sin embargo, estos esfuerzos se han dirigido fundamentalmente a una mejora en criterios de cantidad, dejando de lado aspectos relacionados con la calidad de los productos. Durante largo tiempo, se ha realizado una selección dirigida específicamente al crecimiento proteico de los animales en detrimento del lipídico, que presenta un mayor contenido energético y, por lo tanto, es más costoso de sintetizar (Mcal/kg ganancia; Knap, 2000).

Por otro lado, la organización Común del Mercado de Carne Porcina de la Comisión Europea ha definido los esquemas para clasificar sus canales en función de su calidad, con el fin de fijar criterios y precios entre los Estados miembros. La clasificación de las canales en función de su calidad es una herramienta útil en la comercialización de la carne. Su objetivo es agrupar las canales en grupos o clases basándose en uno o varios criterios de calidad. El porcentaje de magro de la canal sigue siendo el criterio de calidad más valorado, e incluso es el criterio de pago utilizado para su clasificación (Council Regulation EC 3220/84). Según estas normativas, el porcentaje de magro estimado se determina por métodos aprobados. En España se estableció una ecuación autorizada, obtenida con la sonda automática Fat-o-Meater (Gispert y Diestre, 1994). Con este método se miden dos variables con un solo punto de introducción de la sonda.

Actualmente la ecuación vigente en España es:

$$\% \text{ de Magro} = 61,56 + (-0,878 \times G34) + 0,157 \times M34$$

G34: espesor de grasa a 60 mm de la línea media, entre la 3ª y 4ª costilla desde la última.

M34: espesor de músculo tomado en la misma operación que se mide G34.

Por lo tanto, la necesidad de producir canales magras para satisfacer la demanda de carne y productos cárnicos con poca grasa, se ve apoyada por el sistema de clasificación.

Se considera que, en general, el consumidor europeo actual de carne de cerdo prefiere una carne sin exceso de grasa, con buena capacidad de retención de agua, color uniforme, y sabor y aroma característicos de la carne porcina (Diestre, 1992). Según una encuesta realizada para toda España en 1997, dentro de un estudio intereuropeo que analizó la actitud del consumidor en relación con la carne y las políticas de calidad (Briz, 2000), la mayoría de los encuestados consideran que son capaces de determinar la calidad de la carne sólo con verla. Dentro de cada tipo de carne, el consumidor distingue una serie de características que pueden ser distintas según sea en el momento de la compra o a la hora de consumir. La valoración de las características de la carne de cerdo en el lugar de la compra depende en gran medida de su color, por encima de otros parámetros como la cantidad de magro, la marca o etiqueta, el veteado y el lugar de origen. El precio es el factor que menos influye en el consumidor según la encuesta, aunque es evidente su repercusión real. Por otra parte, los factores relacionados con la seguridad alimentaria son considerados, cada vez más, de una especial importancia. Por una parte, la carne debe estar libre de agentes patógenos responsables de zoonosis. Además, es imprescindible garantizar la ausencia de residuos, incluidos los antibióticos. Según la encuesta, con relación a la seguridad percibida en el consumo de carne, los principales factores que inquietan al consumidor español son la presencia de *Salmonella* y la utilización de hormonas y antibióticos en la alimentación animal, seguido por el exceso de grasa y el contenido en colesterol. Por último, el consumidor comienza a exigir otros aspectos, como el bienestar animal y el respeto del medio ambiente. Es la denominada “calidad social”, que debe constar en el producto que llega al mercado.

Sin embargo, en el momento de consumir es fundamental la apreciación de otros parámetros. Se valoran por un igual las principales características de la carne: olor, sabor, ternura, jugosidad, color y textura, a diferencia de lo que ocurre con otras

carnes, como la de ternera, en las que sabor, ternura y jugosidad son especialmente valoradas sobre el resto de características. De todas ellas, tanto el sabor, como la ternura y la jugosidad tienen mucho que ver con el contenido y calidad de la grasa, fundamentalmente de la grasa intramuscular.

La mayor parte de los autores revisados están de acuerdo al señalar que el nivel de grasa intramuscular o grasa de veteado, ejerce un efecto positivo sobre las características sensoriales u organolépticas de la carne de cerdo (Devol *et al.*, 1988; Touraille y Monin, 1989; Gandemer *et al.*, 1990; Fernández *et al.*, 1999; Mourot y Hermier, 2001). En concreto, se ha observado un grado de correlación evidente entre la cantidad de grasa intramuscular y diferentes parámetros de la calidad de la carne de cerdo, representados por la ternura, la jugosidad, el “flavour” y la palatabilidad (Tabla 1.1; Devol *et al.*, 1988; Hodgson *et al.*, 1991; Fernández *et al.*, 1999). Por el contrario, diferentes autores no han podido evidenciar ninguna correlación (Lentsch *et al.*, 1991), e incluso se ha señalado una influencia negativa del nivel de veteado sobre diferentes parámetros que definen la calidad de la carne (Cameron *et al.*, 1990; Lan *et al.*, 1993). El primer inconveniente parece ser que algunos parámetros utilizados para definir la calidad de la carne siguen resultando poco objetivos.

**Tabla 1.1** – Correlación entre cantidad de grasa intramuscular y características de la calidad de la carne de cerdo

	<b>Terneza</b>	<b>Jugosidad</b>	<b>“flavour”</b>	<b>Palatabilidad</b>
Devol <i>et al.</i> (1981)	***	*	*	-
Hodgson <i>et al.</i> (1991)	-	**	-	**
Fernández <i>et al.</i> (1999)	N.S.	*	*	-

\*P < 0.05; \*\*P < 0.01; \*\*\*P < 0.001; N.S. P > 0.05

En la situación de producción actual, el cerdo presenta unos contenidos de grasa intramuscular muy bajos (Leisegneur-Meyner y Gandemer, 1991; Mourot y Hermier, 2001), lejos de los niveles mínimos necesarios que se han establecido para mantener una calidad y palatabilidad de la carne aceptables. Devol *et al.* (1988) sugieren que un 2.5-3.0% de veteado en la carne (expresado como porcentaje lipídico) es un nivel mínimo para mantener unas características de ternura y jugosidad aceptables. En el mismo sentido, recientes estudios basados en paneles sensoriales, han demostrado que para el consumidor el porcentaje ideal de grasa intramuscular en el *Longissimus*

*dorsi* del cerdo sería de un 3% (Mourot y Hermier, 2001). En la actualidad, los esfuerzos a realizar para la mejora de la calidad organoléptica de la carne de cerdo deberían dirigirse a incrementar el contenido de grasa intramuscular, para superar como mínimo el 2%, sin modificar el contenido graso total. La cantidad de grasa aun cobra más importancia en el caso de los productos derivados del cerdo. En el caso concreto del jamón, producto que goza de gran tradición en nuestro país, es importante que posean una cantidad importante de grasa infiltrada. Esta grasa ayuda a que se produzca una penetración de la sal y una deshidratación más lenta, con lo cual es posible alargar el período de maduración para poder obtener un jamón de calidad superior. Por otro lado, jamones extremadamente magros con frecuencia presentan una textura muy seca en los músculos superficiales y muy blanda en el interior del jamón, ya que se dificulta la pérdida de humedad durante el proceso del secado, y la calidad resultante es peor.

A parte de las características genéticas del animal, la alimentación es uno de los factores más importantes que intervienen en el contenido y características de la grasa de la canal del cerdo. En concreto dos de sus principios nutritivos, los carbohidratos, principal componente energético de las dietas porcinas, y las grasas, por su elevado contenido energético y posible depósito directo en la canal, ejercen un efecto evidente sobre el contenido y perfil de la grasa corporal del cerdo.

## 1.2. CARBOHIDRATOS: DIGESTIÓN Y METABOLISMO

### 1.2.1 Composición y características de los carbohidratos

Los hidratos de carbono son los componentes mayoritarios de las principales materias primas utilizadas en la alimentación del ganado porcino. Su contenido es en la mayor parte de los casos superior al 60% de la MS (Patridge, 1993) y, por lo tanto, constituyen su principal fuente energética. Sin embargo, la cantidad varía entre ingredientes, siendo los cereales y sus subproductos los que contienen una mayor proporción, sobre un 80% MS<sup>-1</sup>, mientras que los ingredientes considerados como concentrados proteicos, leguminosas y sus tortas de extracción, contienen alrededor de un 40% (Bach Knudsen, 1997). Los hidratos de carbono consisten en estructuras heterogéneas de composición variable. En general, están constituidos por una amplia variedad de moléculas, desde los azúcares libres de bajo peso molecular hasta los polisacáridos de estructura más compleja (Tabla 1.2).

**Tabla 1.2** - Clasificación de los carbohidratos más abundantes en los ingredientes de origen vegetal mayoritarios en la alimentación animal

Clasificación	Subgrupo	Componente	Monosacárido <sup>1</sup>	Enlace
Azúcares (1-2)	Monosacáridos		Glu, Gal, Fru, Xil, Ara, Man	
	Disacáridos	Sacarosa Maltosa Lactosa Celobiosa	Glu, Fru Glu Glu, Gal Glu	(1-2) $\alpha(1-4)$ $\beta(1-4)$ $\beta(1-4)$
Oligosacáridos (3-9)	$\alpha$ -galactósidos	Rafinosa Estaquiosa Verbascosa	Gal, Glu, Fru Gal, Glu, Fru Gal, Glu, Fru	$\alpha(1-6) / (1-2)$ $\alpha(1-6) / (1-2)$ $\alpha(1-6) / (1-2)$
	Malto-oligosacáridos	Maltodextrinas	Glu	Lineal $\alpha(1-4)$
Polisacáridos (<9)	Almidón	Amilosa Amilopectina  Dextrinas	Glu Glu  Glu	Lineal $\alpha(1-4)$ Mixtos $\alpha(1-4)$ , (1-6) Lineal $\alpha(1-4)$
	PNA	Pectinas Celulosa Hemicelulosa $\beta$ -glucanos Arabinoxilanos Arabinogalactanos Galactomananos	Ac. galacturónico Glu Xil, Glu, Man, Ara, Gal Glu Xil, Ara Gal, Ara Man, Gal	Lineal $\alpha(1-4)$ Lineal $\beta(1-4)$ Mixtos $\beta(1-3)$ , (1-4) Mixtos $\beta(1-3)$ , (1-4) Lineal $\beta(1-4)$ Lineal $\alpha(1-4)$ Lineal $\beta(1-4)$

<sup>1</sup>Glu, glucosa; Gal, galactosa; Fru, fructosa; Xil, xilosa; Ara, arabinosa; Man, manosa.

### **Principales compuestos de los carbohidratos**

Los hidratos de carbono están constituidos por azúcares de bajo peso molecular, polisacáridos no amiláceos (PNA) y almidón. Los diferentes ingredientes utilizados más comúnmente en la alimentación porcina incluyen diferentes proporciones de estas estructuras (Tabla 1.3). En general, se considera que los cereales contienen principalmente almidón, mientras que las leguminosas presentan una mayor proporción de azúcares de bajo peso molecular y PNA.

**Tabla 1.3** – Composición (g kg<sup>-1</sup>) de carbohidratos (CHO) y lignina de los principales ingredientes utilizados en la alimentación porcina. (Bach Knudsen, 1997)

Ingrediente	CHO total <sup>1</sup>	Azúcares			Almidón	PNA		Lignina
		Mon. <sup>2</sup>	Sac. <sup>3</sup>	α-gal. <sup>4</sup>		Celulosa	PNC <sup>5</sup>	
<b>Cereales</b>								
Maíz	823	4	13	3	690	22	75	11
Trigo	823	3	11	6	651	20	99	19
Cebada	834	4	12	6	587	43	144	35
Centeno	850	6	19	7	613	16	136	21
Avena	787	2	11	5	468	82	150	66
<b>Leguminosas</b>								
Soja	400	7	70	60	27	62	155	16
Guisante	735	9	30	50	454	53	127	12
Altramuz	534	5	24	77	14	131	271	12
Haba	705	5	27	54	407	81	109	20

<sup>1</sup>Total CHO: incluye el total de carbohidratos y la lignina

<sup>2</sup>Mon.: monosacáridos libres

<sup>3</sup>Sac.: sacarosa

<sup>4</sup>α-gal: oligosacáridos de galactosa α-galactósidos (rafinosa, estaquiosa y verbascosa)

<sup>5</sup>PNC: polisacáridos no celulósicos

### **Azúcares de bajo peso molecular**

Incluyen monosacáridos, disacáridos y oligosacáridos que contienen entre 3 y 9 unidades de monosacáridos. La sacarosa y los α-galactósidos son los más abundantes en las materias primas utilizadas en alimentación de monogástricos. Su presencia es poco importante en la mayoría de cereales, que contienen generalmente entre un 2 y 3% de su MS, de los cuales una pequeña proporción son monosacáridos libres (0,2 - 0,6%) y el resto sacarosa. Por el contrario, las leguminosas son las que presentan la

mayor concentración (5-15% MS<sup>-1</sup>) de este tipo de carbohidratos, principalmente representados por oligosacáridos. La soja contiene entre un 4 - 5,5% MS<sup>-1</sup> de oligosacáridos, principalmente  $\alpha$ -galactósidos (rafinosa, estaquiosa y bajos contenidos de verbascosa; Coon *et al.*, 1988).

### Almidón

El almidón es un polímero de composición molecular simple, constituido exclusivamente por un solo monómero, la D-glucosa. Es el polisacárido de reserva más importante de los vegetales, y es especialmente importante en el caso de los cereales, en los cuales llega a representar el 70-80% MS<sup>-1</sup> de su composición. Su estructura está organizada en forma de gránulos compactos, parcialmente cristalinos, cuya forma y tamaño varían entre especies, e incluso entre variedades. Su superficie es lisa, constituida por tramos finales de las cadenas de almidón y una matriz proteica. En general, los gránulos de los cereales son pequeños y esféricos y los de las leguminosas presentan forma de riñón (Gallant *et al.*, 1992). Está formado por dos tipos de estructuras, la amilosa y la amilopectina. La amilosa es una molécula lineal de 500-600 unidades de D-glucosa unidas por enlaces  $\alpha(1-4)$ . La amilopectina, de características similares, es más corta y ramificada con enlaces  $\alpha(1-6)$  cada 24 a 30 unidades de glucosa. La proporción entre amilosa y amilopectina es otra característica importante del almidón, siendo igualmente variable entre los diferentes tipos de vegetales, aunque en la mayoría de ellos oscila entre un 15 y un 35% de amilosa (Robyt, 1998). Tanto las características de composición como de morfología del almidón condicionan sus propiedades físico-químicas y funcionales.

Su digestión en el intestino delgado de los monogástricos se produce mediante la actividad de la  $\alpha$ -amilasa de la secreción pancreática. Sin embargo, no todo el almidón es digerido y absorbido en forma de glucosa en el intestino delgado. Parte del mismo llega a intestino grueso donde puede ser fermentado y utilizado por la microflora (Levitt, 1983). A esta porción no digerible se le ha atribuido el nombre de "almidón resistente", definido como el total del almidón y productos de su degradación no absorbidos en el intestino delgado de individuos sanos, y catalogado por varios autores como una nueva categoría de fibra dietética (Champ *et al.*, 1998).

### Polisacáridos no amiloideos (PNA)

Incluyen una amplia variedad de moléculas y, a su vez, su composición y contenido es altamente variable entre especies vegetales. Los PNA junto a la lignina fueron definidos

como fibra dietética (Theander *et al.*, 1994), representando mayoritariamente los polisacáridos estructurales de la pared celular. La pared celular en las células vegetales es una estructura bifásica, en la que microfibrillas de celulosa forman un esqueleto rígido, que está incluido en una matriz gelatinosa y amorfa compuesta por PNA no celulósicos y por glucoproteínas (McDougall *et al.*, 1996). La pared celular vegetal primaria contiene (g kg<sup>-1</sup> MF) agua 600, celulosa 100-150, PNA no celulósicos 50-100, pectinas 20-80, lípidos 5-30 y proteínas 10-20. De los PNA no celulósicos destacan la hemicelulosa, los  $\beta$ -glucanos y los arabinoxilanos.

**CELULOSA:** es un polisacárido lineal formado por unidades de glucosa. La formación de enlaces de hidrógeno entre diferentes cadenas generan agregados de cadenas que le confiere rigidez, resistencia a la degradación biológica, baja solubilidad en agua y resistencia a la hidrólisis ácida (Lineback y Rasper, 1988). A medida que la planta envejece, la lignina se va extendiendo fijando las moléculas de celulosa. Por todos estos motivos la celulosa no es digerida en absoluto por los enzimas del tracto intestinal de los animales monogástricos, y su fermentación es limitada.

**HEMICELULOSA:** formada por cadenas lineales o ramificadas de xilosa, glucosa, arabinosa, galactosa y manosa. Tiene un peso molecular muy inferior a la celulosa, y puede ser soluble o insoluble en agua. Tampoco se digiere enzimáticamente en intestino delgado, aunque es fermentada en mayor medida que la celulosa en el intestino grueso.

**PECTINA:** polisacárido soluble formado por una cadena lineal de moléculas de ácido galacturónico, en la cual distintas proporciones de los grupos ácido se encuentran como metil ésteres. Otros azúcares se encuentran ligados como cadenas laterales.

**$\beta$ -GLUCANOS:** Desde el punto de vista de su estructura química, los  $\beta$ -glucanos están constituidos por cadenas de glucosa unidas con enlaces  $\beta(1,4)$ , como las de celulosa, sobre las que se intercalan ramificaciones al azar mediante enlaces  $\beta(1,3)$ . Estos enlaces rompen la linealidad, e impiden la formación de fibrillas, favoreciendo su solubilidad y el incremento de la viscosidad.

**ARABINOXILANOS:** Son polisacáridos de estructura química más compleja que los  $\beta$ -glucanos. Básicamente están constituidos por xilosa y arabinosa, formando polímeros lineales de xilosa unidas por enlaces  $\beta(1,4)$  y ramificaciones de arabinosa. Estas



ramificaciones se consideran las responsables de la solubilidad del polímero en agua y la formación de soluciones viscosas.

En los cereales los PNA no representan cuantitativamente una fracción importante. Según sus contenidos en PNAs, de menor a mayor, los cereales más utilizados en la alimentación de monogástricos son: arroz, maíz, trigo, triticale, avena, centeno y cebada. El contenido en PNAs dependerá no sólo del tipo de cereal, sino también del genotipo, la variedad (Campbell *et al.*, 1989) y las condiciones de cultivo y conservación (Brufau *et al.*, 1993; Williams *et al.*, 1997). En los cereales destacan principalmente  $\beta$ -glucanos y arabinosilanos, debido a las implicaciones nutricionales en la alimentación de los animales monogástricos. La mayoría de  $\beta$ -glucanos y arabinosilanos se encuentran en el endospermo de la semilla, encapsulando las reservas de almidón, proteína y grasa presentes en el interior de la célula (Björk *et al.*, 1984). Sus contenidos y características varían entre cereales, siendo el ratio arabinosilanos:  $\beta$ -glucanos mayor en el grano de centeno y trigo que en cebada y avena (Åman *et al.*, 1989).

Las semillas de leguminosas, contienen en general una mayor proporción de PNA que los cereales, entre un 12 – 44% MS<sup>-1</sup>, y presentan una mayor variabilidad estructural, de componentes químicos muy ramificados y, en general, complejos.

### ***Técnicas analíticas para la determinación de los carbohidratos***

Desde un punto de vista analítico, se han propuesto diversos métodos de determinación y caracterización de los carbohidratos. Sin embargo, la mayor parte de ellos presentan limitaciones para describir el auténtico valor nutritivo de los carbohidratos.

El análisis Weende, propuesto a mitad del siglo XIX, y el método de Van Soest (Van Soest y Wine, 1967), siguen siendo los más utilizados en la alimentación animal. El análisis Weende define los carbohidratos en dos de sus fracciones: la fibra bruta (FB), que incluye los carbohidratos estructurales, y los extractivos libres de nitrógeno (ELN), constituidos principalmente por el almidón y los azúcares libres. La fracción de la FB es determinada como el resto de material vegetal obtenido después de un ataque ácido y otro alcalino. Su principal error es la subestimación del valor de esta fracción, debido a que una parte importante de la fracción fibrosa se solubiliza en los reactivos y, por lo tanto, queda englobada en la fracción de los ELN, calculados por diferencia. Como consecuencia, el término de “fibra bruta” no proporciona una información precisa en la

alimentación de los animales monogástricos, y es particularmente grave en el caso de los rumiantes.

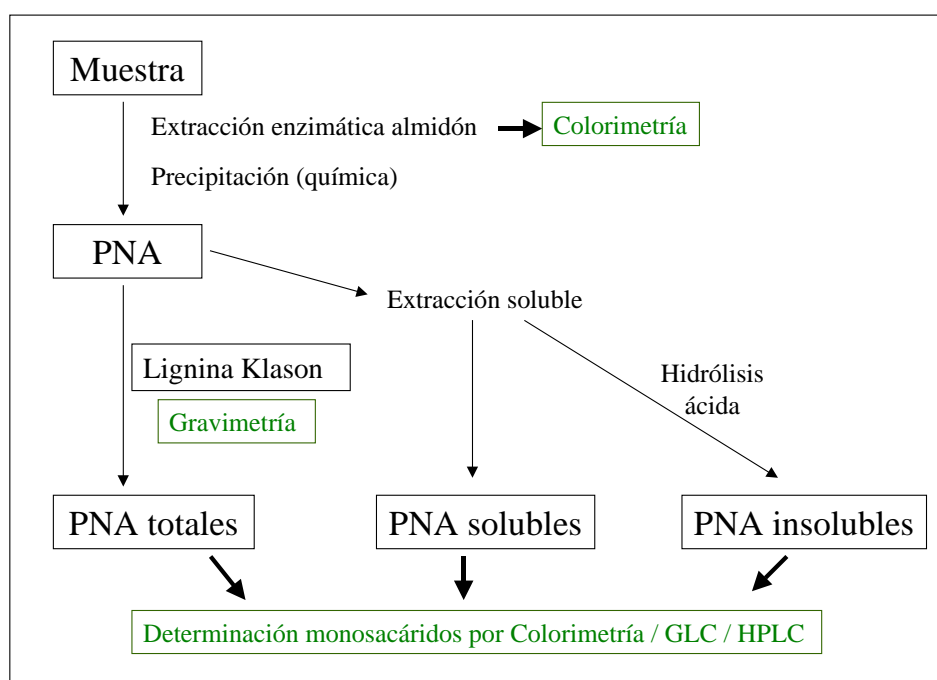
El método de Van Soest fue propuesto como alternativa al análisis Weende, para caracterizar con una mayor precisión el fraccionamiento de los polisacáridos de origen forrajero. Se trata también de un método gravimétrico que utiliza soluciones detergentes para separar la fracción insoluble en detergente neutro (fibra neutra detergente; FND), en detergente ácido (fibra ácida detergente; FAD) o insoluble en ácido sulfúrico concentrado (lignina ácido detergente; LAD). Por diferencia entre ellas, se obtiene el contenido en celulosa, hemicelulosa y lignina. El método sigue presentando limitaciones, ya que gran parte de los PNA hidrosolubles y las pectinas no quedan recogidas en la fracción de la FND y, a su vez, otros componentes como almidón y proteína pueden contaminar esta fracción, por lo que también resulta un método insatisfactorio (Theander y Åman, 1980).

En las últimas dos décadas ha habido un rápido desarrollo de técnicas analíticas, para determinar la estructura química de los carbohidratos y establecer sus relaciones con el aprovechamiento digestivo (Bach Knudsen, 2001). En su conjunto, esquematizados en la Figura 1.1, se trata de métodos enzimáticos y químicos de extracción, purificación e identificación de las diferentes fracciones de carbohidratos: azúcares de bajo peso molecular, almidón y PNA de la pared celular (Theander *et al.*, 1990; Englyst y Cummings, 1990; Bach Knudsen y Li, 1991; Asp *et al.*, 1992). Sin embargo, todos ellos pueden presentar también limitaciones, como es el cambio de las propiedades y estructuras de los polisacáridos durante todos los procesos de extracción y purificación, o bien que la cantidad extraída sea insuficiente y no representativa de cada fracción (Åman y Westerlund, 1996).

En general, los métodos analíticos más recientes se basan en una extracción enzimática inicial del almidón y azúcares libres, seguida por la de los componentes de la fibra. Posteriormente el análisis de la fibra se caracteriza según su solubilidad. Los PNA solubles ejercen una gran influencia sobre la digestión y absorción en intestino delgado, mientras que los insolubles alcanzan el intestino grueso sin ser absorbidos. Si bien estas técnicas analíticas permiten cuantificar y caracterizar las propiedades físicas y químicas de la fibra, su interpretación nutricional dista de estar completamente caracterizada. En particular, se han observado discrepancias importantes entre las digestiones efectivas obtenidas *in vitro* y lo que sucede realmente en el tracto digestivo.

Así por ejemplo, el valor de fibra soluble obtenido *in vitro* es superior a la que realmente se solubiliza *in vivo* en el intestino delgado del animal (Bach Knudsen, 2001). Esto es parcialmente debido a las condiciones de extracción de las diferentes fracciones de los carbohidratos. Una extracción incompleta del almidón, situación bastante frecuente, conlleva una sobreestimación de la fibra (Theander y Westerlund, 1993). Se han señalado otra serie de errores o imprecisiones de estos métodos analíticos (Mañas *et al.*, 1994). Es el caso de la sobreestimación de la lignina, que puede incluir otros compuestos ácido-insolubles (cutinas, polifenoles o productos proteicos condensados). Por otro lado, la fracción soluble de la fibra puede subestimarse al no precipitar con el etanol, o bien no solubilizarse al quedar atrapada en la matriz que forman los componentes de la fracción insoluble.

**Figura 1.1** – Esquema de los diferentes métodos analíticos de los carbohidratos



No obstante, el desarrollo de todas estas analíticas de los carbohidratos han permitido diferentes revisiones sobre la composición de los carbohidratos presentes en diferentes ingredientes (Åman y Graham, 1990; Champ, 1996; Bach Knudsen, 1997; Robyt, 1998). Aún así, se necesita desarrollar nuevos métodos analíticos que describan mejor las acciones y cambios de las diferentes fracciones de polisacáridos durante el proceso digestivo.

### **1.2.2 Digestión de los carbohidratos**

La absorción de los carbohidratos a través de la mucosa del tracto digestivo, se realiza en forma de monosacáridos, por lo que la digestión efectiva requiere la hidrólisis completa hasta sus componentes monoméricos. El proceso de digestión de las estructuras poliméricas es básicamente enzimático, bien por enzimas propias del animal a lo largo de la porción anterior del tracto digestivo (almidón), o bien por enzimas sintetizadas por la microflora del tracto digestivo posterior (PNA).

#### ***Digestión en el intestino delgado***

En el tracto digestivo del cerdo no existen enzimas propios capaces de digerir la fracción de PNA. Sin embargo, se estima que una proporción considerable de los PNA ingeridos, en algunos casos superior a las dos terceras partes, desaparecen en el intestino delgado (Mathers, 1991). Se trata por lo tanto de una digestión microbiana, producida por la flora bacteriana presente en estómago y en intestino delgado, fundamentalmente en el íleon. Sin embargo, esta digestión no afecta a todas las estructuras de PNA por igual (Tabla 1.4). Fadel *et al.* (1989) observaron que el 40% de los PNA no celulósicos desaparecían antes de alcanzar el ciego, mientras que la celulosa no era digerida en absoluto hasta alcanzar este punto. Similares resultados obtuvieron Glitsø *et al.* (1998), si bien el porcentaje de PNA no celulósicos degradados hasta íleon fue variable y dependiente de la fuente de carbohidratos en la dieta. Bach Knudsen y Canibe (2000) atribuyeron esta variabilidad a la solubilidad de cada fracción de PNA. En el mismo sentido Vervaeke *et al.* (1991) observaron que la glucosa asociada a la fracción soluble de PNA era el componente más degradado. En particular, debido al flujo tubular del intestino anterior, la digestión de la fibra en este tramo digestivo dependerá del tiempo de tránsito de la digesta, y de las características y la cantidad de los PNA en la dieta (Cyran *et al.*, 1995). Aun así, experimentalmente se ha establecido que no más del 6% de la energía neta del alimento puede perderse por fermentación microbiana en el intestino delgado (Vervaeke *et al.*, 1979).

En comparación a la fibra, el almidón es mayoritariamente digerido en la porción anterior del tracto digestivo del cerdo mediante enzimas propios del animal (Bach Knudsen y Canibe, 2000). La hidrólisis del almidón se inicia en la cavidad oral, con la acción de la  $\alpha$ -amilasa de la saliva. La masticación a su vez contribuye a aumentar la superficie de contacto, facilitando el acceso del enzima. Este enzima rompe enlaces

$\alpha(1,4)$ , liberando maltosa, maltotriosa y dextrinas a partir de las moléculas de almidón. La digestión salivar continua en el esófago y en la parte esofágica del estómago. Tiene poca afinidad por los enlaces terminales, y tampoco puede actuar sobre los enlace  $\alpha(1,6)$ , y los situados cerca de ellos. La cantidad de  $\alpha$ -amilasa salivar secretada comparada con la pancreática representa 1:250.000 (Low y Longland, 1990), si bien su actuación es significativa. Se considera que este enzima contribuye en un 15% al total de la digestión del almidón (Björck, 1996).

**Tabla 1.4** – Digestibilidad (g/kg) en el intestino delgado del cerdo de las diferentes fracciones de los carbohidratos.

	Grupo de Investigación <sup>1</sup>					
	G1	G2	G3	G4	G5	
Dieta base	Sorgo	Centeno	Cebada guisante	Trigo	Trigo y salvado	Cebada
Peso animales (kg)	85	30	80	50	50	40
Digestibilidad ID (g/kg)						
Materia orgánica	0,41		0,58	0,86	0,80	0,86
Azúcares				0,56	0,58	
Almidón		0,98	0,95	0,99	0,99	0,98
Celulosa	-0,08	-0,46		-0,05	0,02	
Hemicelulosa	0,04					
$\beta$ -Glucanos		0,23		0,25	0,15	0,70
Glucosa-PNA			-0,09			0,48
Arabinosilanos		0,10		-0,05	0,08	
Arabinosa			0,11	-0,03	0,10	0,22
Xilosa			-0,15	-0,07	0,06	0,19
Ác. Urónico			-0,68	0,03	0,17	0,50
PNA – solubles				-0,38	-0,12	
PNA – insolubles				0,11	0,10	
PNA totales	-0,05	0,07	0,01	-0,01	0,08	0,35

<sup>1</sup>Grupo de investigación: G1, Keys y DeBarthe (1974); G2, Glitsø *et al.* (1998); G3, Jørgensen *et al.* (1996); G4, Back Knudsen y Canibe (2000); G5, Canibe y Back Knudsen (2001).

Frente al reducido pH estomacal donde los enzimas  $\alpha$ -amilasa son inactivados, en el duodeno se neutraliza y sube el pH del contenido digestivo, de manera que los enzimas pancreáticos y de la mucosa pueden actuar. La  $\alpha$ -amilasa pancreática es muy similar a la salivar, aunque no parece romper enlaces al azar sino que presenta una tendencia a actuar sobre los extremos, produciendo residuos de maltosa. Los productos resultantes de la degradación del almidón en el lumen intestinal, maltosa, maltotriosa y dextrinas límite, difunden a la superficie luminal de la mucosa intestinal donde se encuentran una serie de carbohidrasas, entre las que destacan la lactasa, la trealasa y cuatro maltasas diferentes (Low y Longland, 1990):

**LACTASA:** Es una  $\beta$ -galactosidasa, pero también presenta cierta actividad  $\beta$ -glucosidasa. Actúa sobre la lactosa (100), celobiosa (25-30) y gentobiosa (17). Es abundante en la mucosa de los lechones, y disminuye con la edad.

**TREALASA:** Hidroliza la trealosa, disacárido presente en insectos, hongos y algunas plantas, pero poco frecuente en piensos comerciales. No se encuentra en la mucosa del lechón al nacer, sino que aparece con la edad.

**MALTASAS:** Son un conjunto de cuatro enzimas: Ia, Ib, II y III, que actúan sobre diferentes substratos, a pesar de una actividad común específica sobre las porciones  $\alpha$ -glucosídicas. No están presentes en las mucosas de los lechones al nacer, pero aumentan rápidamente en las primeras semanas de vida, y siguen aumentando en cerdos adultos.

- **Maltasa Ia (Sacarasa):** Hidroliza la sacarosa. Está presente y es muy activo en todo tipo de cerdos, excepto en lechones jóvenes.
- **Maltasa Ib (Isomaltasa):** Es el principal enzima que hidroliza las uniones  $\alpha(1,6)$  de las dextrinas (maltasa II y III en menor grado). Permite que el resto de enzimas puedan actuar sobre las uniones (1,4) restantes. Junto a la maltasa Ia, forma parte de un mismo complejo enzimático (isomaltasa-sacarasa).
- **Maltasa II y III:** A diferencia de la  $\alpha$ -amilasa, hidrolizan los residuos de glucosa individualmente desde el extremo no reductor de la cadena.

### Almidón resistente

A pesar de la elevada actividad amilasa en intestino delgado (Low y Longland, 1990; Glitsø *et al.*, 1998), una cierta cantidad de almidón puede resistir la digestión y alcanzar

el intestino grueso sin ser degradado (Levitt, 1983). Es la fracción que se ha denominado “almidón resistente”.

El almidón puede ser resistente a la degradación por la  $\alpha$ -amilasa pancreática debido a factores intrínsecos del gránulo, o extrínsecos (Englyst *et al.*, 1992). En general, según los factores intrínsecos del gránulo, se han identificado tres tipos de almidón resistente (Muir *et al.*, 1993; Englyst *et al.*, 1992):

1. RS1 – Almidón físicamente inaccesible: Gránulos atrapados en una matriz física, que limita o retrasa el acceso de los enzimas digestivos (Holm *et al.*, 1989). Este tipo de almidón resistente está afectado por el procesado del alimento, reduciéndose o eliminándose con la molienda.
2. RS2 – Gránulos resistentes: Depende de la estructura física del gránulo (forma, tamaño, o estructura cristalina). Algunas estructuras cristalinas del gránulo de almidón presentan un mayor grado de organización (tipo B), lo que les hace menos susceptibles a ser hidrolizadas por ácidos y enzimas que las estructuras amorfas (tipo A). La gelatinización que se produce al tratar térmicamente el almidón en presencia de agua, provoca la pérdida de la estructura cristalina y, por lo tanto, facilita la digestión por las  $\alpha$ -amilasas (Annison y Topping, 1994).
3. RS3 – Almidón retrógrado: Retrogradación son los cambios producidos en el almidón gelatinizado, que pasa de tener una estructura amorfa a otra más ordenada o cristalizada (Eliasson y Gudmundsson, 1996). La pérdida de la capacidad de retención de agua y la restauración de la cristalinidad se incrementan con el tiempo transcurrido desde la gelatinización. En general, el almidón retrógrado es digerido de forma ineficiente en el tracto digestivo anterior del animal, porque la cristalinización del gel dificulta la acción enzimática.

Se han identificado otros factores intrínsecos que afectan a la actividad de la  $\alpha$ -amilasa *in vitro*, como son los complejos entre estructuras de amilosa y lípidos, los inhibidores del enzima presentes de forma natural y los PNA, que también pueden tener un efecto directo sobre la actividad del enzima (Englyst *et al.*, 1992). Aún así, no está claro en que medida estos factores afectan la digestibilidad *in vivo* del almidón.

La proporción de amilosa y amilopectina contenida en el gránulo de almidón es otro factor intrínseco que puede afectar la degradación enzimática. Sin embargo, en la

bibliografía se observa una cierta controversia sobre su efecto. Teóricamente la amilosa, como estructura lineal, *a priori* debería ser digerida en mayor medida que la amilopectina, como han contrastado diferentes autores (Keys y DeBarthe, 1974; Low y Longland, 1990). Keys y DeBarthe (1974) determinaron la digestibilidad ileal en cerdos en crecimiento del almidón y de cada una de sus fracciones, amilosa y amilopectina, de cuatro fuentes de cereales diferentes (trigo, sorgo, maíz y cebada). En todas ellas, la amilosa siempre fue digerida en mayor extensión que la amilopectina (92.5 vs. 87.8% digestibilidad media, respectivamente). Resultados similares se han encontrado en ratas (Zhou *et al.*, 1997). En el sentido opuesto, son varios los estudios que señalan que un mayor ratio amilosa:amilopectina como principal factor responsable de una peor digestibilidad del almidón, tanto en ratas (Granfeldt *et al.*, 1993; Kabir *et al.*, 1998) como en cerdos (Pettersson y Lindberg, 1997; Grosjean *et al.*, 1998). Skrabanja *et al.* (1999) realizaron un estudio *in vitro* con dos variedades de guisante que diferían en el ratio amilosa:amilopectina de su almidón (23 vs. 65% de amilosa), para determinar su efecto sobre la formación de almidón resistente y el grado de hidrólisis enzimática del almidón. El almidón procedente de la variedad más rica en amilosa generó una mayor proporción de almidón resistente y presentó una menor hidrólisis.

Entre ingredientes, el gránulo del almidón de los cereales es de mayor tamaño y contiene una menor proporción de amilosa (sobre un 25%) que el de las leguminosas (alrededor del 30%) (Eliasson y Gudmundsson, 1996). Dentro de los cereales, existen también diferencias en la digestibilidad ileal del almidón. El sorgo por ejemplo, presenta una estructura y tamaño de gránulo similar al del maíz, con una proporción similar de amilosa, pero se le atribuye un 90-95% del valor nutricional del almidón de maíz (Hahn *et al.*, 1984; NRC, 1998). De hecho, en estudios de digestibilidad comparada en cerdos en crecimiento entre ambos cereales, el maíz fue siempre más digerido, tanto en intestino delgado como en grueso (Pascual-Reas, 1997). Esta diferencia se ha asociado a un endospermo periférico proteico denso propio del gránulo del sorgo, que le hace más resistente a la penetración del agua y los enzimas (Rooney y Pflugfelder, 1986). Algunas variedades de sorgo presentan también taninos como factores antinutricionales (Rooney y Pflugfelder, 1986; Lizardo *et al.*, 1995) que podrían limitar en parte la actividad enzimática sobre el sustrato.

Por otro lado, otros factores extrínsecos independientes del gránulo de almidón pueden alterar la digestión del almidón por la amilasa pancreática. El más importante es el grado de masticación, que determinará el acceso físico al almidón contenido en



estructuras rígidas (Champ, 1992; Englyst *et al.*, 1992). Otros factores pueden ser el tiempo de tránsito del alimento desde la boca al íleon, la concentración de amilasa en el lumen, la cantidad de almidón presente, y la presencia de otros componentes en el alimento que pudieran afectar la hidrólisis enzimática.

Durante la última década, ha habido un fuerte interés por cuantificar analíticamente la proporción del almidón de los diferentes ingredientes resistente a la degradación enzimática en el intestino delgado. Se han desarrollado una serie de metodologías, basadas en una simulación de lo que sucede *in vivo* en el tracto digestivo, sometiendo a la muestra a una hidrólisis enzimática controlada y determinando posteriormente la glucosa liberada (Champ, 1992; Englyst *et al.*, 1992). El método propuesto por Champ (1992) identifica la cantidad total de almidón y el porcentaje de éste que es resistente. El método propuesto por Englyst *et al.* (1992) obtiene diferentes porciones del almidón total: rápidamente digestible, lentamente digestible y almidón resistente; a su vez obtiene tres fracciones de almidón resistente (RS1, almidón físicamente inaccesible; RS2, gránulos resistentes; y RS3, almidón retrógrado). Los factores extrínsecos dificultan una reproducción real de lo que sucede *in vivo*, y en general la determinación *in vitro* subestima la cantidad de almidón no digerido en el tracto digestivo anterior del animal, aunque son importantes las diferencias individuales. Aun así, hay estudios en humana que han encontrado una buena relación entre la cantidad de almidón resistente cuantificada por estos métodos analíticos y la que realmente se obtuvo *in vivo* (Englyst *et al.*, 1996). En cualquier caso, por el momento las tablas de composición de los diferentes ingredientes utilizados en la alimentación animal, no suelen aportar información sobre la proporción de almidón que es resistente.

### ***Digestión en el intestino grueso***

Una microflora activa está presente a lo largo de todo el tracto digestivo del cerdo desde los primeros días de vida, siendo cuantitativamente importante en la porción distal del intestino delgado y en todo el intestino grueso. A lo largo de estómago y del intestino delgado se producen simultáneamente ambos tipos de digestión enzimática, la endógena, que es predominante, y la microbiana (Bach Knudsen *et al.*, 1993). Sin embargo, en el tramo distal del intestino delgado la cantidad de amilasa endógena presente disminuye drásticamente, mientras que la actividad enzimática microbiana se incrementa, incluidas proteasas bacterianas que hidrolizarán la amilasa pancreática en ciego y colon. El tránsito lento del intestino grueso (20-40 h), respecto al del estómago e

intestino delgado (2-16 h) (Low, 1993), favorecerá el crecimiento bacteriano. La fermentación de polisacáridos de estructura compleja es un proceso relativamente lento (Van Soest *et al.*, 1983), por lo que sólo podrá tener lugar en esta porción del tracto digestivo.

### Población microbiana

El tracto digestivo del cerdo, a diferencia de otros monogástricos, presenta una microflora bacteriana en porciones proximales, como en el estómago o en el íleon. Sin embargo, en el resto del intestino delgado la población microbiana presente en condiciones normales es prácticamente nula, debido a que la velocidad de tránsito de la digesta es demasiado alta (Jensen, 2001). En el intestino grueso, la microflora presente está formada por más de 500 especies distintas de bacterias, mayoritariamente anaerobias estrictas Gram negativas, con una densidad de  $10^{10}$  -  $10^{11}$  UFC g<sup>-1</sup> digesta (Moore *et al.*, 1987; Bach Knudsen *et al.*, 1993; Jensen, 2001). Los principales mecanismos de control cuantitativo y cualitativo de la microflora son el tipo y la cantidad de sustrato, y las condiciones ambientales de la digesta. Entre ellas, las más importantes son el pH y la concentración de amoníaco, pero también el proceso de mezcla y la velocidad de tránsito de la digesta. Sin embargo, se considera que la composición del sustrato es el principal factor determinante de la composición de la población microbiana del tracto digestivo (Gibson y McCartney, 1998; Jensen, 2001).

### Substratos fermentados

El sustrato mayoritariamente utilizado por la microflora intestinal proviene del alimento, en concreto los carbohidratos (Jørgensen *et al.*, 1996), a pesar de que secreciones endógenas y células de descamación del epitelio intestinal (Stewart *et al.*, 1993), así como proteínas endógenas, y las sales biliares (Edwards y Parrett, 1996), también pueden ser utilizados por diferentes especies bacterianas.

En principio, todos los carbohidratos que escapan a la digestión en el intestino delgado, son susceptibles de ser fermentados por la flora del tracto digestivo posterior. La mayor parte de los carbohidratos que alcanzan el intestino grueso del cerdo son fermentados, y se estima que en heces tan sólo aparecen alrededor del 15% de los PNA ingeridos (Bach Knudsen *et al.*, 1993). En concreto, la principal zona de fermentación de los carbohidratos se concentra en los tramos más proximales del intestino grueso, donde se degradan más del 90% de todos los PNA fermentados (Jørgensen *et al.*, 1996; Glitsø *et al.*, 1998). Sin embargo, no todas las fracciones de carbohidratos son digeridas

por igual en el intestino grueso. En la tabla 1.5 se presenta el porcentaje de carbohidratos y sus principales fracciones que desaparecen en el tracto digestivo posterior. Es un parámetro muy variable, ya que viene determinado por varios factores con sus correspondientes interacciones. Los principales son el tipo y la cantidad de carbohidratos del alimento ingerido, y el tiempo de tránsito de la digesta.

**Tabla 1.5** – Desaparición (%) en el intestino grueso del cerdo de las diferentes fracciones de los carbohidratos en relación a la cantidad que llega<sup>1</sup>

	Grupo de Investigación <sup>2</sup>					
	G1	G2	G3	G4	G5	
Digestibilidad IG (g/kg)						
Materia orgánica	0,50		0,64	0,49	0,43	0,61
Azúcares				0,88	0,89	
Almidón		0,50	1,00	1,00	1,00	1,00
Celulosa	0,33	0,28		0,43	0,29	
Hemicelulosa	0,29					
β-Glucanos		0,86		1,00	1,00	
Glucosa-PNA			0,67			0,63
Arabinosilanos		0,61		0,63	0,53	
Arabinosa			0,92	0,55	0,39	0,65
Xilosa			0,50	0,72	0,65	0,57
Ác. Urónico			0,94	0,26	0,13	0,44
PNA – solubles				0,92	0,92	
PNA – insolubles				0,51	0,40	
PNA totales	0,31	0,65	0,77	0,61	0,50	0,60

<sup>1</sup>Los ingredientes mayoritarios de las dietas y el peso de los animales en los experimentos contrastados son los mismos que los presentados en la tabla 2.4.

<sup>2</sup>Grupo de investigación: G1, Keys y DeBarthe (1974); G2, Glitsø *et al.* (1998); G3, Jørgensen *et al.* (1996); G4, Back Knudsen y Canibe (2000); G5, Canibe y Back Knudsen (2001) y G6, Morales *et al.* (2002)

En general, los carbohidratos son más susceptibles de ser fermentados cuanto más accesibles resulten a la flora microbiana. De esta manera, la solubilidad en agua de los carbohidratos y el tamaño de partícula de la digesta condicionarán su fermentabilidad, siendo superior en los carbohidratos solubles que en los insolubles y en partículas finas que en gruesas (Jensen, 2001). Los carbohidratos de estructura más simple y de mayor solubilidad (almidón, pectinas o β-glucanos) son los primeros en ser degradados por

fermentación y desaparecen prácticamente en su totalidad, mientras que los más insolubles de estructura más compleja (arabinosilanos, hemicelulosa y celulosa) no se digieren totalmente y aparecen en cantidades variables en las heces (Bach Knudsen y Canibe, 2000). De esta manera prácticamente el 100% de las pectinas y los  $\beta$ -glucanos se digieren en ciego y colon proximal, mientras que los arabinosilanos son degradados más lentamente a lo largo de todo el tracto digestivo posterior (Bach Knudsen *et al.*, 1993). Por otro lado, la celulosa es la fracción menos digestible, ya que es una estructura compleja, insoluble, que se organiza formando el esqueleto principal de la pared celular. Su digestión en el intestino delgado es prácticamente inapreciable (Keys y DeBarthe, 1974), mientras que en intestino grueso es la fracción más resistente a su degradación. Por otra parte, el porcentaje de degradación de la celulosa estará condicionado por su grado de lignificación. A medida que el vegetal envejece, la lignina se va depositando entre las cadenas de celulosa, haciendo a éstas prácticamente inaccesibles por los enzimas.

Otro factor que puede influir sobre la degradabilidad de los PNA es la cantidad de fibra del alimento. En general, altas cantidades de fibra conllevará una peor digestión de todos los nutrientes dietéticos, debido por un lado a la mayor velocidad de tránsito de la digesta y, además, la elevada proporción de pared celular dificultará el acceso de los enzimas a los nutrientes (Varel *et al.*, 1988; Chabeauti y Noblet, 1990; Jørgensen *et al.*, 1996). Sin embargo, a medio plazo la proporción de fibra degradada se incrementa al aumentar la cantidad de PNA en la dieta, posiblemente debido a la respuesta anatómica que promueve el tracto digestivo, aumentando tanto su tamaño como su peso (Goodlad y Mathers, 1990; Jørgensen *et al.*, 1996; Mathers *et al.*, 1997; Pluske *et al.*, 1998), para incrementar el tiempo de permanencia de la digesta.

En cuanto al tiempo de tránsito de la digesta en el intestino grueso, diferentes estudios *in vitro* sobre la fermentación de la fibra han concluido que el tiempo de incubación afecta a la extensión global de la fermentación, aunque de forma diferenciada entre los componentes de PNA (Salvador *et al.*, 1993; Casterline *et al.*, 1997; Ferguson y Jones, 2000; Monsma *et al.*, 2000). Con el fin de corroborar esta misma hipótesis *in vivo* Stephen *et al.* (1987) provocaron en humanos una modificación en la velocidad de tránsito digestivo. La reducción del tiempo de tránsito apenas tuvo efecto sobre la digestión total de  $\beta$ -glucanos y arabinosilanos, mientras sí que se incrementó la excreción de celulosa en las heces.

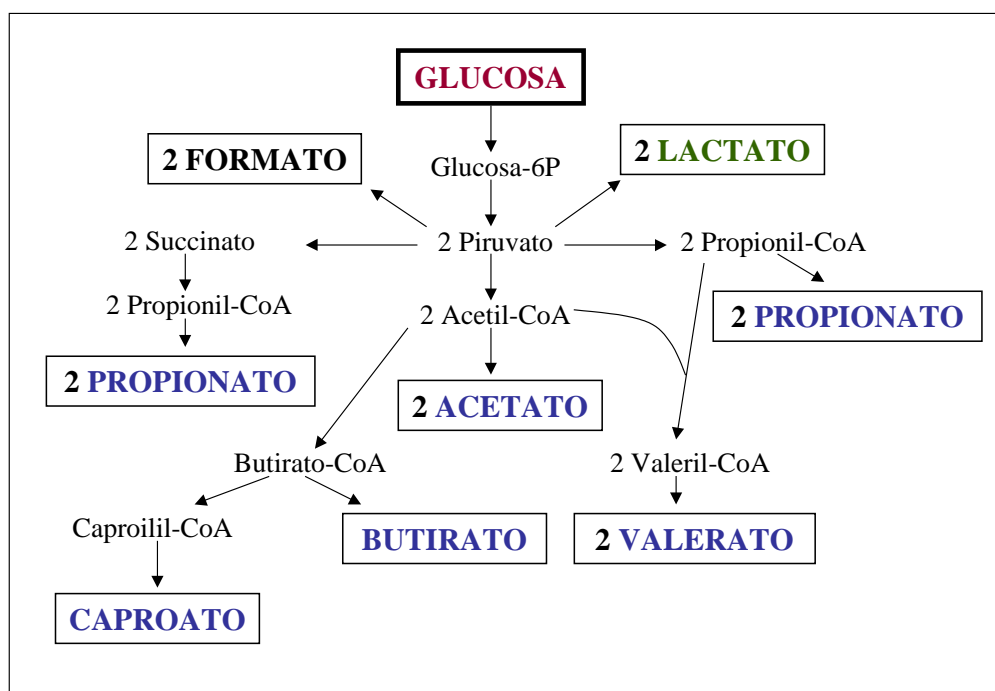
Como se ha descrito anteriormente, la velocidad de tránsito de la digesta es un factor muy correlacionado con el sustrato disponible. En general se considera que los principales mecanismos del control del tránsito en el intestino grueso son el volumen de la digesta y las características del sustrato (Calvert *et al.*, 1989; Glitsø *et al.*, 1998). Se ha señalado también la existencia de un factor genético que determina diferencias entre razas en la velocidad de tránsito de la digesta. Pond *et al.* (1988) compararon en alimentación restringida dos líneas genéticamente diferenciadas, magra vs. obesa, evidenciando un mayor ritmo de tránsito en los cerdos obesos.

### Productos de la fermentación

La fermentación microbiana de los carbohidratos proporciona como productos resultantes mayoritarios los ácidos grasos de cadena corta o ácidos grasos volátiles (AGV), mayoritariamente acético, propiónico y butírico. Simultáneamente, durante el proceso se producen otros compuestos como lactato, alcohol y algunos gases (hidrógeno, metano y dióxido de carbono), en un proceso de extracción de energía, que utilizan las bacterias para su crecimiento y el mantenimiento de su función celular (Cummings *et al.*, 1987). En general, en el intestino delgado el ácido láctico es el principal producto de la fermentación, mientras que en el grueso lo son los AGV (Jensen, 2001). En la Figura 1.2 se presenta el esquema de la degradación por fermentación microbiana de una unidad de glucosa, observándose todos los AGV posibles que de ella se pueden generar.

Por otro lado, la fermentación de los aminoácidos, en concreto de los ramificados (valina, leucina e isoleucina) ofrece como resultado también la producción de AGV, del tipo de los ramificados o isoácidos, como el isobutírico e isovalérico (MacFarlane *et al.*, 1986). En concreto, a medida que la digesta avanza a través del colon, van desapareciendo progresivamente los carbohidratos, que se convierten en un factor limitante del crecimiento bacteriano, desviando la fermentación a la proteína (Annison y Topping, 1994). La mayor fermentación de proteína dará lugar a un aumento progresivo de la concentración de AGV ramificados, alcanzando un máximo en el compartimento rectal, que no suele ser superior al 5% del total de AGV. Otros de los productos de fermentación de las proteínas (amoníaco, aminas, fenoles e indoles), pueden tener efectos negativos sobre la salud de las células epiteliales (Bingham, 1990), o sobre la calidad bromatológica de la canal y de la carne (escatol, Jensen *et al.*, 1995).

**Figura 1.2** – Esquema de los posibles productos obtenidos a partir de la fermentación de una unidad de glucosa.



La cantidad y perfil de los AGV producidos dependerá fundamentalmente del tipo de sustrato fermentado. Diferentes estudios *in vitro* (Tabla 1.6) han analizado la producción total de AGV y su perfil promoviendo una fermentación microbiana de diferentes polisacáridos, e incluso de diferentes ingredientes habituales en la alimentación de monogástricos (Casterline *et al.*, 1997; Ferguson y Jones, 2000; Monsma *et al.*, 2000).

En el tracto digestivo del cerdo la concentración total de AGV y su perfil en cada uno de sus tramos, es resultado de una serie de factores que interaccionan entre sí. Como principal factor se considera la interacción entre el tipo y cantidad de carbohidratos del alimento y el tramo anatómico del tracto digestivo (Topping *et al.*, 1993). La concentración de AGV en el intestino grueso del cerdo varía entre 150-250 mM/g, siendo superior en los tramos más proximales del tracto digestivo posterior, ciego y colon proximal, y descendiendo progresivamente hasta el recto (Imoto y Namioka, 1978; Ehte *et al.*, 1982; Topping *et al.*, 1993). En general, una mayor cantidad de PNA ingeridos, principal sustrato para las bacterias intestinales, aumenta la concentración de AGV en in intestino grueso (Giusi-Perier *et al.*, 1989). Los productos resultantes de

la fermentación estarán condicionados por el tipo de flora presente, que a su vez vendrá determinada por el substrato disponible y la velocidad del flujo de la digesta. Entre los AGV producidos, al igual que sucedía con los estudios *in vitro*, siempre es el acetato el mayoritario, seguido de propionato y butirato. En general, el perfil más comúnmente encontrado es de 65:27:8 para todo el tracto digestivo, salvo para el íleon, donde el acético es prácticamente el único AGV identificado (97:0:3) (Imoto y Namioka, 1978; Cummings *et al.*, 1987).

**Tabla 1.6** – Producción de AGV tras 24 h de fermentación *in vitro* de diferentes substratos (mmol / g substrato).

Substrato	Acético	Propiónico	Butírico	Ramificados	Total
Sacarosa <sup>1</sup>	2,43	2,18	1,25	0,54	6,4
Rafinosa <sup>1</sup>	2,29	1,72	0,57	0,11	4,7
Estaquiosa <sup>1</sup>	2,36	1,86	0,72	0,36	5,3
Almidón <sup>1/2</sup>	1,67 / 2,39	1,06 / 0,96	0,56 / 1,00	0,11 / -	3,8 / 4,4
Almidón resistente <sup>2</sup>	1,16	0,72	0,94	-	2,8
Pectina <sup>1/2</sup>	1,90 / 5,18	0,90 / 0,76	0,20 / 0,57	0,0 / -	2,9 / 6,5
β-glucanos <sup>2</sup>	2,41	1,69	1,44	-	5,54
Celulosa <sup>1</sup>	0,63	0,79	0,08	0,0	1,5
<b>Ingredientes<sup>2</sup>:</b>					
Maíz	0,76	0,21	0,16	-	1,1
Trigo	0,62	0,36	0,11	-	1,1
Avena	1,32	0,96	0,38	-	2,7
Guisante	1,46	0,42	0,11	-	2,0
Soja	1,19	1,14	0,22	-	2,6

<sup>1</sup>Ferguson y Jones, 2000.

<sup>2</sup>Casterline *et al.*, 1997

### Caracterización analítica de la flora microbiana

Diferentes metodologías, generalmente desarrolladas en un inicio para los rumiantes, permiten cuantificar la presencia de masa bacteriana en el tracto digestivo. Así por ejemplo, se ha utilizado la concentración en la digesta de determinados componentes como indicadores microbianos. Entre ellos, destacan las bases púricas o el ATP, indicadores de la concentración de flora y de su actividad, respectivamente.

Tradicionalmente también se han utilizado las técnicas microbiológicas clásicas en la caracterización de la flora intestinal, como el cultivo, selectivo o no, y contaje de unidades formadoras de colonia (UFC) a partir de muestras de digesta o de heces (Robinson *et al.*, 1981; Robinson *et al.*, 1992; Mathew *et al.*, 1994). Sin embargo, estos procedimientos pueden condicionar notablemente los resultados en función de las condiciones de conservación y cultivo. Se han utilizado otras técnicas que también permiten cuantificar directamente la flora bacteriana, como es el análisis microscópico directo, o bien su identificación a través de la determinación de enzimas o metabolitos específicos y productos de la fermentación (O'Sullivan, 1999). Actualmente se han propuesto técnicas sofisticadas de biología molecular, como la reacción en cadena de la polimerasa (PCR), que representan un potencial analítico futuro muy superior para la determinación tanto cuantitativa como cualitativa de la flora intestinal presente (Wang *et al.*, 1996; Leser *et al.*, 2002; Requena *et al.*, 2002).

Con fines cuantitativos orientados a estimar el potencial fermentativo de diferentes substratos o inóculos, se han desarrollado otros procedimientos *in vitro* basados en una incubación controlada de muestras de digesta en botellas o sistemas de cultivo anaeróbicos (Jensen, 2001). El procedimiento asume que la cantidad de gas producido es un indicador de la fermentación y, por lo tanto, de la actividad de la microflora presente. El análisis de los metabolitos resultantes en el gas producido aportan una información sobre el tipo de poblaciones presentes y su actividad. Estas técnicas *in vitro* y su combinación con resultados obtenidos *in vivo*, pueden aportar una información completa de la contribución de la fermentación microbiana a la digestión total en cerdos (Christensen *et al.*, 1999).



### **1.2.3 Absorción y utilización metabólica de los nutrientes**

La asimilación de los nutrientes digeridos en el lumen intestinal por parte del animal tiene lugar en dos fases diferenciadas: una primera, la fase de absorción, durante las 4-5 primeras horas tras la ingestión de alimentos, en la cual se produce un alto y rápido flujo de nutrientes; y una segunda, la post-absorción, con menor flujo de nutrientes, a lo largo de las siguientes 3-4 horas (Giusi-Perier *et al.*, 1989). La glucosa es, claramente, el producto dominante de la asimilación de los carbohidratos, con niveles entre 4 y 8 veces superior al lactato y a los AGV (Bach Knudsen *et al.*, 2000). Estos autores cuantificaron la absorción de todos estos nutrientes en cerdos aplicando una pauta de alimentación con ingestiones cada ocho horas y diferentes fuentes de carbohidratos. Independientemente del tipo de carbohidratos del alimento, observaron un pico post-prandial importante de glucosa, tanto en vena porta como en sangre arterial. Sin embargo, durante la fase de post-absorción, se incrementó paulatinamente la cantidad absorbida de lactato y AGV en detrimento de la glucosa.

#### ***Absorción y destino de los monosacáridos***

Los carbohidratos son absorbidos a través de la mucosa intestinal en forma de monosacáridos. La mayor parte de la absorción de monosacáridos tiene lugar en la parte proximal del intestino delgado (duodeno y yeyuno), en menor medida en intestino delgado distal (íleon) y prácticamente nada en estómago e intestino grueso (Pond *et al.*, 1995).

En comparación con el resto de monosacáridos, la glucosa junto con la galactosa son los de absorción más rápida (Tabla 1.7), debido a que son transportados activamente a través de la mucosa intestinal, por lo que pueden entrar al enterocito en contra de gradiente. No obstante, durante el proceso de absorción, una fracción importante de glucosa es oxidada junto a otros metabolitos como los aminoácidos, con el objeto de satisfacer la elevada demanda energética de la mucosa intestinal (van der Meulen *et al.*, 1997). La absorción de la fructosa y las pentosas en general se produce por difusión pasiva a un menor ritmo. En el caso de la fructosa, se ha demostrado que su absorción intestinal es facilitada por la presencia de glucosa (Riby *et al.*, 1993).

**Tabla 1.7** - Ritmo de absorción selectiva a través de la mucosa intestinal de los monosacáridos por diferentes especies animales, tomando la glucosa como 100 (Pond *et al.*, 1995).

	Glucosa	Galactosa	Fructosa	Manosa	Xilosa	Arabinosa
Cerdo	100	115	55	33	37	16
Rata	100	109	42	21	20	12
Conejo	100	82	-	-	-	60

Algunos monosacáridos son convertidos metabólicamente a glucosa en la misma mucosa intestinal. No obstante, en el cerdo la conversión de fructosa a glucosa se produce principalmente en hígado a través de la actividad de la enzima fructokinasa que incrementa su actividad con la edad del animal (Aherne *et al.*, 1969). La desaparición de la fructosa de la circulación es rápida y eficiente, de tal forma que los niveles de fructosa plasmática no superan 1 mmol l<sup>-1</sup> (Astrup y Raben, 1996).

A pesar de la rápida absorción, es relevante que la cantidad de glucosa absorbida en las cuatro primeras horas post-prandial es menor a la producida en el lumen del tracto digestivo de los monogástricos, y especialmente el cerdo (Lang *et al.*, 1999a; Bach Knudsen *et al.*, 2000). Bach Knudsen *et al.* (2000) cuantificaron la fracción de glucosa absorbida entre un 0.76 - 0.92 de la contenida en el almidón, menor a la digerida en íleon (0.99). La diferencia es la glucosa utilizada por el tejido intestinal, que se estima superior al 5% (Lang *et al.*, 1999a), consumo elevado a pesar de no ser el principal sustrato del enterocito, como son la glutamina y los cuerpos cetónicos.

Por otro lado, la cantidad de glucosa absorbida dependerá de otros factores. El más importante será el tipo de carbohidratos del alimento. Ellis *et al.* (1995) observaron que la cantidad de glucosa absorbida en presencia de PNA solubles era inferior a la del almidón. Atribuyeron estas diferencias a la viscosidad que promovían los PNA solubles en la digesta del yeyuno, dificultando la absorción de la glucosa. En el mismo sentido, Lang *et al.* (1999b) midieron la evolución de la concentración de glucosa durante cuatro horas tras la ingestión en cerdos alimentados con dos tipos de almidón diferentes, uno soluble y altamente digestible en intestino delgado, y otro más replegado y resistente a la digestión enzimática con  $\alpha$ -amilasa pancreática. A pesar de no encontrar diferencias en la viscosidad de la digesta, observaron que la concentración de glucosa siempre fue

superior en los cerdos alimentados con el almidón más digestible, tanto en vena porta como en la circulación post-hepática. Por el contrario, Bach Knudsen *et al.* (2000) no encontraron ninguna relación entre el tipo de carbohidratos del alimento y la concentración de los diferentes nutrientes absorbidos en vena porta (glucosa, lactato y AGV).

La glucosa representa el principal sustrato de energía para todas las células del organismo. En algunos casos, como en las neuronas o los eritrocitos, es el único sustrato energético utilizable, mientras que en otros, como en el músculo cardíaco o esquelético, adquiere un protagonismo secundario al de los ácidos grasos libres (Zierler, 1999). En todo caso, ante un balance de energía positivo es el principal precursor de la síntesis grasa en el cerdo. Este aspecto será analizado con profundidad en el apartado 1.3 de la presente revisión.

#### ***Absorción y destino de los productos de la fermentación***

Según Bergman (1990) los AGV obtenidos por fermentación contienen el 75% del contenido energético de los carbohidratos, ya que el 25% restante es utilizado en parte por la flora microbiana para su crecimiento y otra parte se pierde en la producción de metano o calor. Jensen (2001) estimó un menor porcentaje (inferior a un 60%) para la energía disponible para el animal a partir de la fermentación de los carbohidratos. Valoró las pérdidas en un 6% en forma de calor, un 18% en la producción de gas (principalmente CH<sub>4</sub>) y cerca de un 20% incorporado a la biomasa bacteriana. Cálculos estequiométricos realizados por Roberfroid *et al.* (1993) sugieren que la fermentación anaerobia proporciona aproximadamente una ineficiencia de utilización de la energía contenida en los carbohidratos del 25-30% respecto a la hidrólisis enzimática. En el caso concreto del almidón, Livesey (1990) estimó que de la glucosa liberada tras la hidrólisis del almidón en intestino delgado se obtienen 3,9 Kcal/g, mientras que a partir de su fermentación microbiana se obtienen tan solo 1,8 Kcal/g, lo que supone una eficiencia del 45% de la fermentación respecto a la hidrólisis enzimática.

Los diferentes productos de la fermentación de los carbohidratos siguen patrones de absorción y utilización específicos. Así por ejemplo, el lactato es absorbido de forma muy temprana post-ingestión, indicando que se forma principalmente en la fermentación que tiene lugar en las zonas más proximales, estómago e intestino delgado (Bach Knudsen *et al.*, 2000). Parte del lactato presente en la sangre portal también puede proceder de la oxidación de la glucosa en la mucosa intestinal.

Por otro lado, la absorción de los AGV se produce de forma pasiva en función su concentración en la digesta y del pH del medio (Bergman, 1990). Sin embargo, en general se considera que la absorción de AGV es consistentemente menor que su producción (Tabla 1.8), debido a su oxidación metabólica por los tejidos (Giusi-Perier *et al.*, 1989; Jensen, 2001). Además, no todos los AGV son absorbidos por igual, debido a que cada uno presenta destinos y utilidades metabólicas diferenciadas, y se observan claras diferencias en el perfil de AGV absorbidos con relación a los producidos en el lumen digestivo. En el caso del butirato, la mayor parte es oxidado a CO<sub>2</sub> o a cuerpos cetónicos en la mucosa del colon durante su transporte al torrente circulatorio. El propionato también es parcialmente metabolizado por la pared intestinal, pero la mayor parte es absorbido y llega al hígado vía sangre portal, donde es utilizado como recurso gluconeogénico. Como consecuencia, en circulación periférica el acetato representa entre el 90-98% de los AGV presentes (Bergman, 1990; Yen *et al.*, 1991) ya que es el que supera en mayor medida la barreras intestinal y hepática. Según los resultados recogidos en la tabla 1.8, la cantidad de acético producido es menor por kg de alimento a la cantidad absorbida. El autor considera que esta diferencia es debida a la producción de ácido acético por fermentación microbiana en el estómago y en el intestino delgado.

**Tabla 1.8** - Cantidad AGV (mmol / kg de alimento) producidos y absorbidos en el tracto gastrointestinal posterior de cerdos en crecimiento (60 kg PV).

<i>Acido</i>	<b>AGV Producidos</b>	<b>AGV Absorbidos</b>
Fórmico	14	-
Acético	441	524 ± 27
Propiónico	339	348 ± 17
Iso-butírico	18	13 ± 8
Butírico	416	267 ± 77
Iso-valérico	27	20 ± 15
Valérico	119	100 ± 40
Caprónico	27	-
TOTAL	1402	1272 ± 160

*Jensen (2001)*

Al propionato y al butirato se les han atribuido la mayor parte de los efectos locales. En concreto, el propionato ejerce una influencia sobre la circulación sanguínea del tracto gastrointestinal, produciendo un efecto de dilatación de los vasos del intestino grueso (Mortensen *et al.*, 1991). Otro posible efecto metabólico atribuido al propionato es el de promover la proliferación del epitelio del intestino grueso, por lo que contribuye a mantener su integridad (Sakata, 1989). Por su parte el butirato se metaboliza en los enterocitos y constituye hasta el 70% de la energía consumida por el colon (Smith y German, 1995). Se le han atribuido otros efectos, como un efecto antimicrobiano selectivo, incrementando los lactobacilos y reduciendo la población de *E. coli* (Gálfi y Neogrady, 1996). En función de estos parámetros, en los últimos años se ha establecido un interés especial en la alimentación humana en el estudio de los factores de la alimentación que pueden incrementar la producción ácido butírico, considerándose éste como uno de los principales factores en el control del cáncer colorectal (Bingham, 1990).

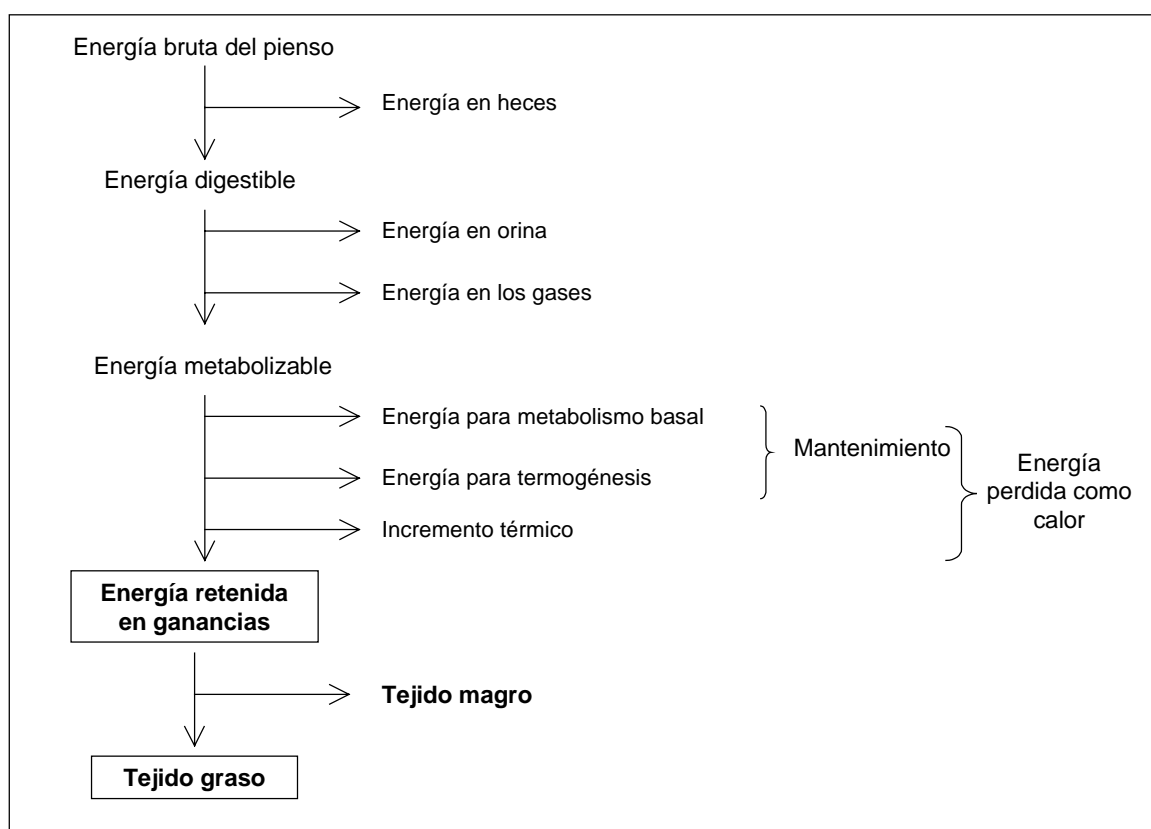
Por su parte el acetato, mayoritariamente absorbido, contribuye al aporte energético para el animal. Se ha estimado que el aporte energético de los AGV puede representar hasta un 25-30% (Yen *et al.*, 1991) de la ED. A partir de dos dietas isoenergéticas con diferentes fuentes de carbohidratos, los mejores rendimientos productivos siempre se registrarán con aquella dieta más rica en almidón digestible en intestino delgado y absorbido en forma de glucosa. Aun así, la aportación de los AGV a la energía digestible puede llegar a ser muy importante en el cerdo. Además, el acetato también puede ser un importante precursor de la biosíntesis de ácidos grasos de cadena larga (Bergman, 1990; Yen *et al.*, 1991). La entrada del acetato en los tejidos es regulada mediante la activación de un enzima, la acetil-CoA sintetasa.

### 1.3. DEPÓSITOS GRASOS DE LA CANAL DEL CERDO

#### 1.3.1 Balace de la energía ingerida

La expresión de energía digestible es la más útil y sencilla para la descripción del valor energético de un alimento. Sin embargo, al determinar la utilización final de la energía por el animal, es el valor de la energía neta el que determina la utilización final de la energía contenida en el alimento disponible para el animal. Como se observa en la figura 1.3, el principal uso que el animal realizará de esta energía será el de su mantenimiento, la producción (crecimiento, reproducción y lactancia) y la retención grasa (Whittemore, 1993). Por lo tanto, la deposición de grasa en los tejidos animales depende del exceso de energía consumida respecto a las necesidades. El exceso se deposita en forma de grasa.

**Figura 1.3** – Esquema del empleo de la energía en el cuerpo del cerdo en crecimiento (Basado en Whittemore, 1993)



La deposición grasa representa la principal estrategia de reserva energética de los animales, como demuestran las amplias diferencias entre la composición animal y la de

los alimentos ingeridos. Mientras la composición de una ración habitual del ganado porcino presenta contenidos en carbohidratos superiores al 65–75% e inferiores al 7–8% de grasa, el contenido en carbohidratos del cuerpo animal es inferior al 1–2% y puede superar el 25% de grasa, alcanzando en los cerdos grasos incluso valores superiores al 50%. Estos datos reflejan que los carbohidratos absorbidos no son almacenados como tales en el cuerpo animal, sino que proporcionan la estructura y potencial reductor para la síntesis endógena de la grasa (Danfaer, 1999).

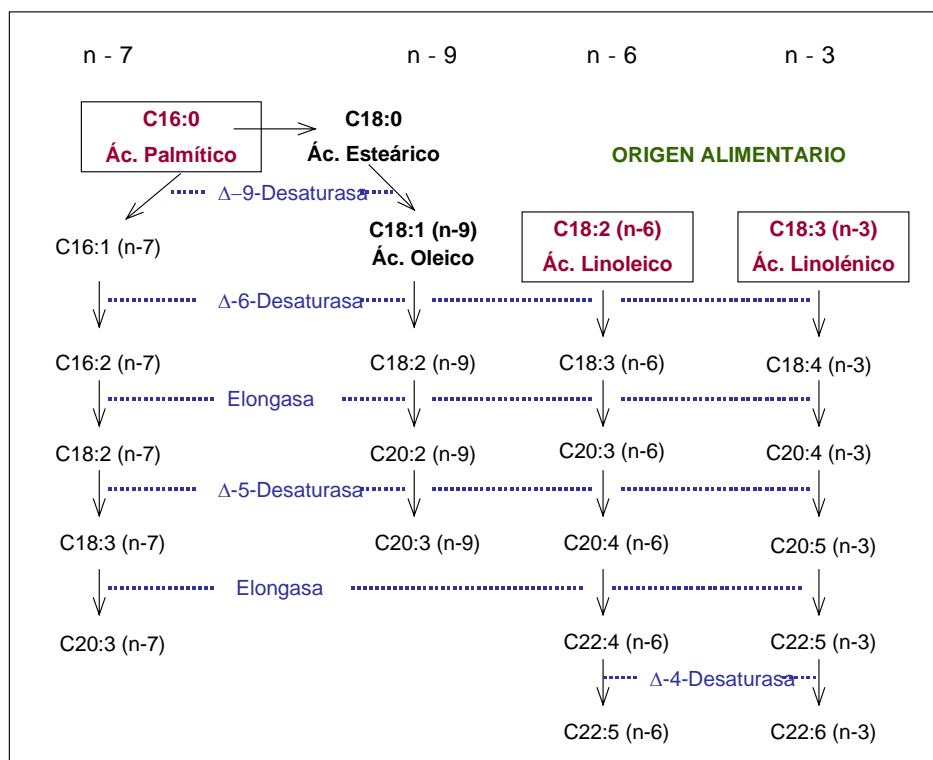
### **1.3.2 Origen de los depósitos grasos del cerdo**

Los componentes mayoritarios de los depósitos lipídicos del animal son los ácidos grasos (AG). Son compuestos formados por una cadena hidrocarbonada con un grupo carboxilo (COOH) en uno de sus extremos. Según el número de dobles enlaces presentes en la molécula, los AG se clasifican en saturados (AGS) cuando no poseen dobles enlaces, monoinsaturados (AGMI) si poseen un doble enlace, o poliinsaturados (AGPI) si contienen más de uno. Los AG de cadena larga constituyentes de los diferentes depósitos grasos de la canal proceden básicamente de dos procesos diferenciados: 1/ el depósito directo de los AG procedentes del alimento, y 2/ la síntesis endógena de los AG. El depósito graso final de la canal del cerdo es resultado de un balance entre ambos tipos de orígenes, en el que intervienen distintos factores que serán analizados más adelante. Además, existen diferencias entre localizaciones anatómicas en la tendencia de definir el origen de la grasa que contienen: hay áreas donde preferentemente se deposita grasa del alimento (como el área del cuello) y otras en las que es más importante la síntesis endógena, como la grasa dorsal (Mourot *et al.*, 1995; Mourot *et al.*, 1996).

El producto final de la síntesis *de novo* es el ácido palmítico (C16:0), el cual da lugar a palmitoleico y esteárico mediante reacciones enzimáticas de desaturación y elongación, respectivamente. A partir del ácido esteárico, los mamíferos son capaces de sintetizar ácido oleico (C18:1 n-9c) y otros AG de la misma serie n-9. Sin embargo, los animales superiores no tienen sistemas enzimáticos para introducir dobles enlaces entre la posición n-9 y el grupo metilo de la cadena del AG, por lo que no pueden sintetizar AG de las series n-6 y n-3 (AGPI). Algunos de estos AGPI son necesarios para sus funciones vitales, por lo que se denominan ácidos grasos esenciales. Los AG esenciales más importantes son los ácidos linoleico (C18:2n6) y linolénico (C18:3n3). A partir de ellos, salvo algunas excepciones como los carnívoros estrictos, los tejidos

animales son capaces de sintetizar el resto de las familias /n-6/ y /n-3/, respectivamente, mediante las mismas reacciones de desaturación y elongación mencionadas anteriormente. Por lo tanto, como está esquematizado en la Figura 1.4, la síntesis endógena dará lugar principalmente a AGS, mientras que el depósito directo de la grasa de la dieta, responderá al perfil de AG del alimento, y será el único responsable del origen de los AGPI. Los AGMI presentan doble origen, dietético y síntesis *de novo*.

**Figura 1.4** – Rutas metabólicas de la síntesis de los principales ácidos grasos en los mamíferos (Adaptado de Gurr, 1984)



### Depósito directo

Diferentes investigaciones han demostrado que es posible modificar con la dieta el perfil en AG de los diferentes depósitos grasos del cerdo, tanto el contenido en AG monoinsaturados (ácido oleico), como de los poliinsaturados (ácidos linoleico y linolénico) y sus derivados (St. John *et al.*, 1987; Hertzman *et al.*, 1988; Cava *et al.*, 1997; Fontanillas *et al.*, 1997 y 1998). Así por ejemplo, los resultados de Fontanillas *et al.* (1997 y 1998) evidenciaron una estrecha correlación entre el perfil de AGMI y AGPI en el alimento y su presencia en la grasa subcutánea (Fontanillas *et al.*, 1998), grasa intramuscular y grasa abdominal (Fontanillas *et al.*, 1997). A este respecto, es



interesante destacar el elevado contenido en linoleico de la mayoría de materias primas utilizadas más frecuentemente en la alimentación porcina. En todos los cereales y casi todos los concentrados proteicos de origen vegetal, el contenido se sitúa alrededor del 50% de la grasa bruta (FEDNA, 1999). En el caso de las grasas añadidas, lógicamente la composición dependerá de la grasa utilizada. En general, las procedentes de origen animal destacan por su elevado contenido en AGS, mientras que las de origen vegetal presentan un superior contenido en AGPI.

Desde un punto de vista conceptual, la deposición directa de AG se lleva a cabo por una secuencia de complejos mecanismos de digestión, absorción y transporte con una mínima modificación de los mismos. Diferentes factores afectan a la asimilación global de la grasa del alimento, tanto sobre los procesos digestivos como sobre la absorción, repercutiendo en su depósito final en la canal. Los más importantes hacen referencia a la alimentación, en concreto a la composición de la grasa del alimento y al régimen de alimentación, además de la edad del animal (Freeman, 1984).

Diferentes estudios en cerdo han evidenciado que no todos los AG son absorbidos con la misma intensidad. La entrada de un lípido en la fase micelar, paso necesario para su absorción, depende de su solubilidad en la solución de sales biliares. En concreto, AG insaturados y de cadena media serán más solubles y, por lo tanto, con mayor capacidad para incrementar la solubilidad micelar y su absorción, que los AG saturados y de cadena larga (Freeman, 1984). Por otro lado, los AG libres se absorben peor que los triglicéridos (TG). Cuanto mayor es el contenido de AG libres, mejor se puede observar una disminución progresiva y lineal de la absorción (Powles *et al.*, 1993). Por lo tanto, para facilitar la absorción de los AG se requiere la presencia del TG o bien de su producto de hidrólisis, el monoglicérido. También tiene una marcada influencia la posición en que están esterificados los AG en el TG (Davis y Lewis, 1969). Tras la acción de la lipasa pancreática, restan en elevada proporción los monoglicéridos con el AG situado en la posición 2, por lo que éstos serán los más fácilmente absorbibles. Los esterificados en las posiciones 1 y 3 se liberan al medio en elevada proporción quedando en forma libre, pudiendo además precipitar con cationes bivalentes como el calcio.

Por otro lado, en un régimen de alimentación restringida la síntesis de grasa se ve limitada, por lo que porcentualmente cobrará más importancia el depósito directo de la grasa del alimento, y por tanto éste será más insaturado. Cuando la alimentación es *ad*

*libitum*, el exceso de energía, sobre todo en forma de carbohidratos, favorece el depósito de AG procedentes de la síntesis endógena, mayoritariamente saturados y, en último término, monoinsaturados.

En cuanto al efecto de la edad sobre la deposición directa de la grasa dietética, en general la capacidad de asimilar la grasa del alimento, tanto su digestión como su absorción, incrementa con la edad. Sin embargo, los cerdos en fase de lactación poseen una gran capacidad para depositar la grasa de la leche materna. El alto contenido de grasa presente en la leche materna (sobre un 40% de la MS) cubre el 60% de los requerimientos energéticos del lechón, por lo que es capaz de digerir y utilizar altas cantidades de grasa. En cualquier caso, esta capacidad de digestión lipídica sólo es posible con la grasa de la leche, debido a la estructura específica de los glóbulos de grasa en la leche de la cerda, y la existencia de un sistema enzimático involucrado en su digestión. Sin embargo, la actividad de la lipasa pancreática es limitada en el lechón, por lo que la asimilación de otro tipo de grasas no lácteas será limitada y se incrementa con la edad.

### ***Síntesis endógena***

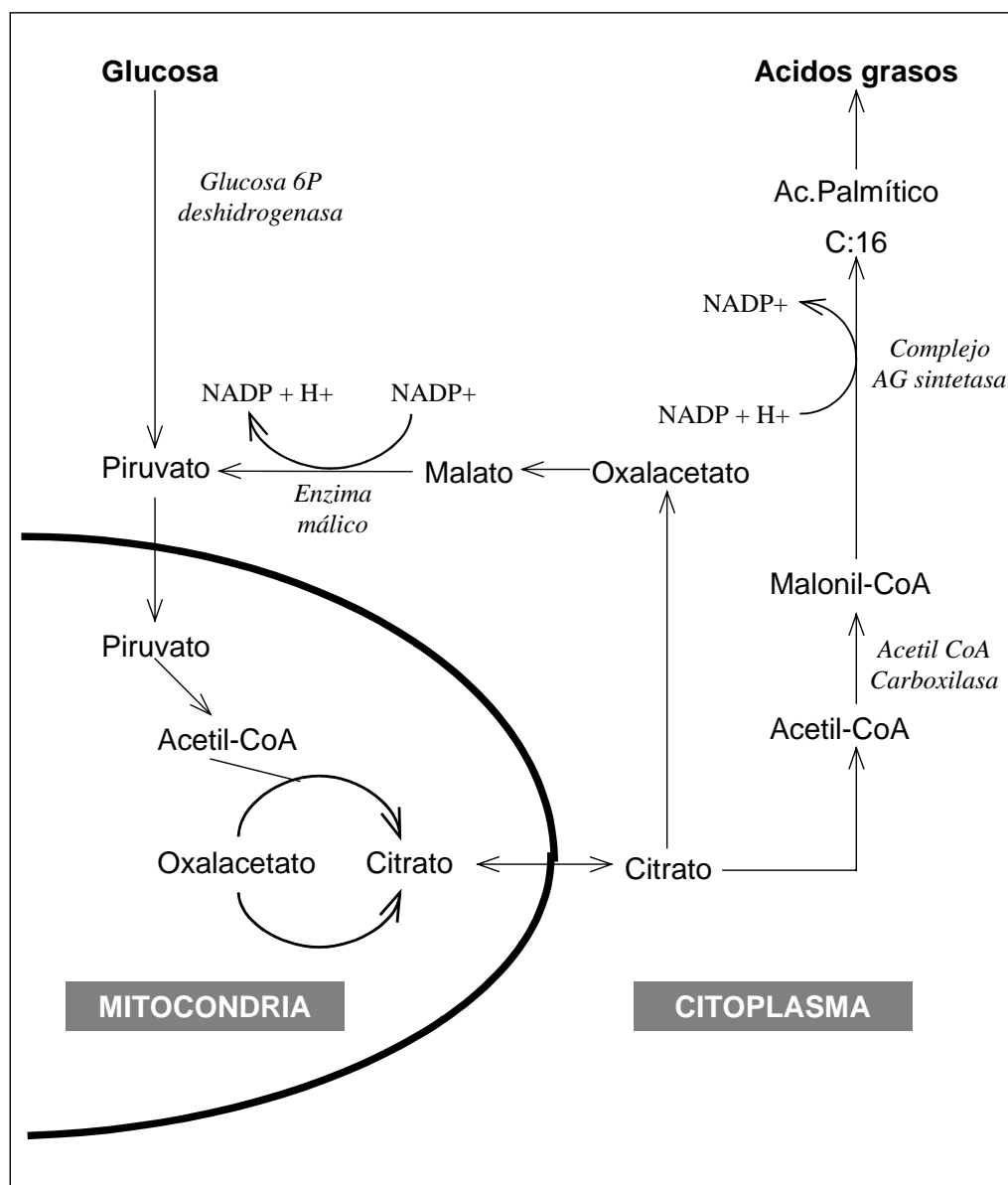
Frente a otras especies como las aves o los primates, en los que el hígado se manifiesta como el principal órgano de síntesis de AG, el porcino presenta su mayor actividad lipogénica en el tejido adiposo (O'Hea y Leveille, 1969; Mersmann *et al.*, 1976). Así, estudios *in vitro* demuestran que el tejido adiposo presenta una mayor capacidad de incorporación de precursores lipídicos que el hígado (O'Hea y Leveille, 1969).

Como hemos visto anteriormente, las características de composición de las dietas administradas al ganado porcino presentan, generalmente, un reducido contenido lipídico, por lo que la síntesis *de novo* de AG a partir de los carbohidratos dietéticos se convierte en el proceso fundamental de síntesis grasa en esta especie (O'Hea y Leveille, 1969). Las dietas destinadas al ganado porcino son ricas en cereales, que aportan una cantidad importante de almidón como principal substrato energético. De esta manera, la glucosa procedente del almidón representa el principal precursor de la síntesis grasa en el cerdo (Mersmann, 1986). En el proceso de la lipogénesis (Figura 1.5) las cadenas carbonadas son metabolizadas vía glicolisis a piruvato, a partir del cual se formará el grupo acetil-CoA, primer substrato de la síntesis grasa. A su vez, la

glucosa también proporciona la mayor parte de las moléculas de glicerol, necesario para la formación final de los triglicéridos (TG) de depósito. Por otro lado, la glucosa es también el sustrato inicial de la ruta del fosfogluconato o pentosa fosfato deshidrogenasa, donde se aporta el poder reductor necesario para la biosíntesis de AG.

Como se observa en la Figura 1.5, el proceso de la lipogénesis representa un complejo proceso enzimático cuya regulación parece establecida en último extremo por su sustrato principal, la glucosa. En este sentido, diferentes trabajos han evidenciado la importancia de señales intermedias en el proceso de biosíntesis promovidas por la glucosa-6-fosfato, y la xilosa-5-fosfato (Towle *et al.*, 1997; Girard *et al.*, 1997).

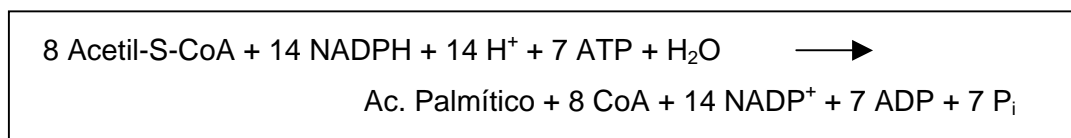
**Figura 1.5** – Esquema del proceso de la lipogénesis en un adipocito



Como se observa en la figura 1.5, la principal ruta de síntesis de AG comienza con la incorporación de dióxido de carbono al acetil-CoA para producir malonil-CoA, por la activación de la enzima acetil-CoA carboxilasa (Kim, 1997). En concreto, la molécula de acetil-CoA proviene de las mitocondrias, principalmente a partir de la oxidación del piruvato, de la degradación oxidativa de algunos aminoácidos o de la oxidación de AG de cadena larga. Una vez sintetizado, el malonil-CoA es el precursor inmediato de 14 de los 16 átomos de carbono del ácido palmítico. El grupo malonil y un grupo acetilo es entonces transferido desde el CoA al complejo ácido graso-sintetasa, situados en el citosol. La transferencia de otro grupo malonil-CoA, dará lugar a un ácido graso saturado de dos átomos de carbono más largo que el precedente. En la mayoría de los organismos, incluido el cerdo, el sistema de ácido graso-sintetasa se detiene en la producción de ácido palmítico, por especificidad de los complejos enzimáticos. Además el palmitoil-CoA funciona como retroinhibidor del sistema de la ácido graso-sintetasa.

Así pues, el ácido palmítico (C16:0), será el principal precursor de los ácidos grasos de cadena larga en las células animales. A partir del mismo, se puede formar ácido esteárico (C18:0) u otros AGS de cadena más larga por acción del sistema de elongación, presente en los microsomas y en las mitocondrias. Además es posible la obtención de AG de cadena más corta por eliminación de dos átomos de carbono (Gunstone y Norris, 1983). Los ácidos palmítico y esteárico también dan lugar, por medio de la acil-graso-CoA desaturasa de los microsomas al ácido palmitoleico (C16:1 n9) y al ácido oleico (C18:1 n9), los dos AGMI más abundantes de los tejidos adiposos del cerdo.

La ecuación que sintetizaría la formación de una molécula de ácido palmítico, precursor del resto de AG, sería la siguiente:



Sin embargo, la glucosa no es el único posible precursor de la síntesis de AG en el cerdo, a pesar de ser el mayoritario. Diferentes estudios *in vitro* han demostrado que otras moléculas también pueden ser incorporadas en la síntesis de AG por los adipocitos, y podrían considerarse importantes substratos fisiológicos en ciertas

condiciones nutricionales (Mersmann, 1986). Es el caso del acetato, derivado de la fermentación de carbohidratos en el tracto posterior de monogástricos como hemos visto en el apartado 1.2.2, que puede ser incorporado por el tejido adiposo del cerdo convirtiéndose en acetil-CoA dentro del adipocito. En rumiantes, el acetato procedente de la fermentación ruminal es el principal precursor de la síntesis de la grasa de reserva (Hood, 1982). O'Hea y Leveille (1969) también demostraron la incorporación del acetato en el tejido graso del cerdo *in vivo*. Pero su importancia como precursor lipídico no está tan bien definida como en rumiantes, ya que los estudios son escasos y los que se realizan *in vitro* suelen utilizar concentraciones muy elevadas de acetato (unos 10 mM), mientras que las concentraciones fisiológicas en sangre son muy inferiores (<0,2 mM) y alcanzando sólo alrededor de 1 mM cuando más del 10% de la energía metabolizable es proporcionada por el acetato absorbido (Imoto y Namioka, 1983).

Se ha demostrado, también *in vitro*, la participación de otras moléculas en la síntesis de AG, como el lactato, el citrato, la leucina, el glicerol o el aspartato (Mersmann, 1986). A su vez, diferentes autores han señalado al propionato, producto resultante de la fermentación microbiana, como otro posible precursor de la síntesis de AG, concretamente de los AG de cadena impar (Cava, 1997). En concreto, Cava (1997) observó una relación directa entre la fermentación en el tracto digestivo posterior del cerdo y la cantidad de AG de cadena impar en los depósitos grasos de la canal.

Independientemente del precursor de la grasa sintetizada, los resultados de diversos trabajos experimentales con cultivos de adipocitos *in vitro* o con animales alimentados con raciones carentes de grasa, han permitido demostrar que el perfil de síntesis endógena de AG es relativamente constante. Aproximadamente, el 45% de los AG sintetizados son saturados y el 55% monoinsaturados (Brooks, 1971). Ello hace suponer que, con pequeñas variaciones, ésta sea la proporción de AG sintetizados de forma endógena en cualquier situación productiva. También pueden sintetizarse algunos AGPI (C20:3 n-9, fundamentalmente) en situaciones en las que el aporte de AG esenciales por la ración es insuficiente, si bien no es un hecho habitual y su dimensión es cuantitativamente poco importante. Es necesario recordar que más allá del carbono-9 de la cadena de AG, los mamíferos son incapaces de introducir dobles enlaces.

### **1.3.3 Composición de la grasa del cerdo**

En la actualidad, el contenido de grasa en un cerdo de 100 kg de peso es inferior al 20% (Mourot y Hermier, 2001), mientras que en la década de los 70 estos valores se situaban entre 35 - 40%, pudiendo alcanzar el 50% para cerdos de 200 kg (Henry, 1972).

La grasa de la canal está constituida principalmente por los ácidos grasos (AG), que suelen encontrarse esterificados con el glicerol para formar parte de los triglicéridos (TG) o los fosfolípidos (PL) (Van Golde y Van den Bergh, 1977). Los TG, por lo tanto, son ésteres del glicerol y tres AG, en tanto que los PL además presentan un grupo fosfato esterificado con la molécula del glicerol y con una base nitrogenada. Esta diferencia tiene relación con sus funciones en el animal, ya que los TG se almacenan fundamentalmente en el tejido adiposo como depósito de reserva energética, mientras que los PL son componentes estructurales en todos los tejidos. En general, los PL suelen tener un mayor grado de insaturación, ya que necesitan dar fluidez a la membrana celular.

La grasa del cerdo se localiza en los tejidos adiposos (las grasas visibles y separables) y en los lípidos intramusculares (las grasas invisibles de veteado). Estos diferentes depósitos grasos del cerdo no se desarrollan en el mismo momento a lo largo del crecimiento: el tejido subcutáneo presenta el ritmo de depósito más precoz, mientras que el intramuscular es el más tardío (Lee y Kauffman, 1974). La composición de ambos tipos de depósito graso difiere considerablemente, tanto el contenido de grasa total como el perfil de AG que contiene, dependiendo a su vez de múltiples factores, como se detallará más adelante.

#### **Tejidos adiposos**

En función de su localización anatómica, los tejidos adiposos depositados se clasifican como tejido graso subcutáneo, intermuscular y la grasa interna. No todos ellos contribuyen de igual manera al contenido graso separable total de la canal. El tejido subcutáneo siempre es cuantitativamente el más importante, ya que manifiesta un crecimiento más rápido, y representa aproximadamente un 65% del total de los tejidos grasos. Este tejido se caracteriza por una proporción de grasa superior al 85% (Souci *et al.*, 1994), con una proporción del 95% de AG (McCance y Widdowson, 1993). Comprende el tejido adiposo subcutáneo dorsal o tocino y el tejido adiposo subcutáneo abdominal o panceta y tiene la función de depósito de reserva. El tocino dorsal está

dividido en dos partes netamente separadas por una trama de tejido conjuntivo. En segundo lugar, la grasa intermuscular, asociada al tejido conjuntivo que separa los haces de fibras musculares, representa un 30% de la grasa separable. Por último, la grasa interna, mayoritariamente grasa intestinal y perirenal, representa alrededor de un 5% del total de grasa. Es también un tejido de reserva.

En la Tabla 1.9 se detalla la composición de los diferentes tejidos adiposos, y el perfil de AG típico de cada uno de ellos. Las grasas internas destacan sobre el resto de depósitos por su mayor riqueza en lípidos (Bucharles *et al.*, 1985). En cuanto al perfil de AG, varía según el tipo de depósito considerado. En general se establece un gradiente de insaturación positivo desde el centro de la canal a la periferia. Así, los depósitos adiposos subcutáneos son los más insaturados y la grasa perirenal tiene la mayor concentración de AGS y la menor concentración de AGMI (Villegas *et al.*, 1973; Katsumata *et al.*, 1995). Incluso en la misma grasa dorsal se evidencia el gradiente entre la capa externa e interna, siendo la composición de la exterior más insaturada (Leat *et al.*, 1964; Isabel, 2000). En cuanto a los AGPI, siguen la evolución general de los AG insaturados, si bien son, como ya se ha dicho, especialmente dependientes del perfil dietético (Cava *et al.*, 1997; Fontanillas *et al.*, 1997).

**Tabla 1.9** – Contenidos medios de lípidos, proteínas y agua de los distintos tejidos adiposos del cerdo y su perfil en AG.

	Grasa SC dorsal		Intermuscular	Interna <sup>3</sup>
	Capa externa	Capa interna		
<b>Composición (%)<sup>1</sup></b>				
Grasa	86	86	72	91
Proteína	10	10	5	1
Agua	3	3	22	7
<b>Perfil AG de la grasa<sup>2</sup></b>				
AGS	37,5	41,5	42,3	47,0
C16:0	23,1	25,0	25,6	27,0
C18:0	12,5	14,5	14,9	18,0
AGMI	60,5	56,9	55,9	51,4
C18:1	56,5	53,2	51,6	47,8
AGPI	2,0	1,6	1,8	1,6

<sup>1</sup>Bucharles *et al.*, 1985.

<sup>2</sup>Leat *et al.*, 1964.

<sup>3</sup>Perfil en AG de grasa interna, sólo incluye grasa perirenal.

### Grasa intramuscular

El depósito de grasa intramuscular es el último en formarse, presentando su mayor ritmo de crecimiento a partir de los cuatro meses de edad (Lee y Kauffman, 1974; Mourot y Kouba, 1999). Junto con las grasas intermusculares, participan en la función estructural de los tejidos musculares y, como hemos visto anteriormente, influyen de forma muy importante en las calidades organolépticas y nutricionales de la carne y sus derivados. En la tabla 1.10 se observa el contenido de grasa total, en TG y en PL de diferentes músculos de canales procedentes de cerdos de 100 kg PV, así como el perfil de AG de ambas fracciones. El contenido graso de los diferentes músculos se encuentra en proporciones muy variables, pero siempre inferiores al de los tejidos adiposos. En cuanto a la proporción de TG y PL, Leseigneur-Meynier y Gandemer (1991) concluyeron que sólo el contenido de PL refleja proporcionalmente la actividad oxidativa del músculo, siendo el músculo blanco glicolítico *Longissimus dorsi* el que posee el contenido menor y el músculo rojo oxidativo masetero el contenido mayor.

El perfil en AG de la grasa intramuscular es sustancialmente distinto al del resto de depósitos adiposos, no obedeciendo al gradiente de insaturación descrito con anterioridad. En general, comparándolo con los demás depósitos, presentan un contenido elevado en AGMI y bajo en AGPI, siendo el contenido en AGS variable (Camara *et al.*, 1996; Fontanillas *et al.*, 1997).

En general, en todos los depósitos grasos analizados tanto el contenido graso como su composición serán dependientes de múltiples factores, algunos de los cuales analizaremos en el siguiente apartado (1.3.4). En cualquier caso, no todos los depósitos son igualmente susceptibles a ser modificados. Así por ejemplo, el tejido adiposo subcutáneo dorsal y la grasa perirenal son más susceptibles a ser modificadas con la grasa del pienso que la grasa intramuscular (Wood *et al.*, 1986).



**Tabla 1.10** – Contenido en lípidos totales, triglicéridos (TG) y fosfolípidos (PL) de los músculos (g/100 g de músculo), y perfil en AG de ambas fracciones (TG y PL).

	<i>Longissimus dorsi</i>	<i>Biceps femoris</i>	<i>Psoas major</i>	<i>Trapezius</i>	<i>Masetero</i>
<b>Composición</b>					
Lípidos totales	1,5	1,4	1,3	2,0	1,8
Triglicéridos	1,0 <sup>ab</sup>	0,8 <sup>b</sup>	0,7 <sup>b</sup>	1,3 <sup>a</sup>	0,9 <sup>b</sup>
Fosfolípidos	0,5 <sup>c</sup>	0,6 <sup>b</sup>	0,7 <sup>b</sup>	0,7 <sup>b</sup>	0,9 <sup>a</sup>
<b>Perfil de los TG</b>					
AGS	42,5 <sup>a</sup>	36,2 <sup>c</sup>	42,4 <sup>a</sup>	41,1 <sup>ab</sup>	39,6 <sup>b</sup>
C16:0	26,5 <sup>a</sup>	22,1 <sup>b</sup>	24,5 <sup>a</sup>	25,0 <sup>a</sup>	23,2 <sup>b</sup>
C18:0	14,1	11,9	14,3	13,2	13,6
AGMI	50,3 <sup>a</sup>	49,0 <sup>a</sup>	46,8 <sup>c</sup>	47,4 <sup>b</sup>	49,4 <sup>a</sup>
C18:1	46,0 <sup>a</sup>	45,0 <sup>a</sup>	42,6 <sup>b</sup>	43,3 <sup>b</sup>	44,9 <sup>a</sup>
AGPI	7,2 <sup>c</sup>	14,9 <sup>a</sup>	10,8 <sup>b</sup>	10,5 <sup>b</sup>	10,8 <sup>b</sup>
<b>Perfil de los PL</b>					
AGS	35,5	35,4	36,0	35,0	35,8
C16:0	22,7	23,2	22,8	21,8	20,8
C18:0	11,4 <sup>b</sup>	11,1 <sup>b</sup>	11,9 <sup>b</sup>	11,9 <sup>b</sup>	14,0 <sup>a</sup>
AGMI	30,5 <sup>a</sup>	25,1 <sup>b</sup>	24,8 <sup>b</sup>	26,5 <sup>b</sup>	27,0 <sup>b</sup>
C18:1	26,2	22,5	23,0	23,6	24,5
AGPI	33,7 <sup>b</sup>	39,7 <sup>a</sup>	38,8 <sup>a</sup>	36,6 <sup>a</sup>	36,6 <sup>a</sup>

En una misma fila, medias con superíndices de letras distintas difieren significativamente ( $P < 0,05$ ) Leseigneur-Meyner y Gandemer (1991)

#### **1.3.4 Factores que modifican el contenido graso de la canal**

Existen diferentes factores, como hemos comentado anteriormente, que pueden condicionar el depósito graso resultante del animal y su evolución, tanto en contenido total como sus características y distribución. Entre ellos, destacan aquellos factores intrínsecos al animal, como la edad o estado de desarrollo, el sexo y el genotipo, y otros extrínsecos a él, como las condiciones de producción y la alimentación.

##### ***Factores intrínsecos***

###### **Edad o Estado de desarrollo**

Como pauta general del crecimiento animal, el porcentaje de grasa corporal aumenta con el peso corporal (Davies, 1974). El contenido graso del lechón al nacimiento es muy bajo, entre el 1 y 2% del peso corporal (Le Dividich *et al.*, 1991). Los autores evidenciaron que los lechones recién nacidos no tienen capacidad de sintetizar grasa a partir de carbohidratos. Sin embargo, durante esta fase de lactación, tiene lugar un engrasamiento importante, por lo que está tendrá lugar a partir del depósito directo de la grasa contenida en la leche materna, como se ha indicado en el apartado anterior (1.3.3). De hecho, tras los primeros 12 días de vida el tejido adiposo se incrementa por 10, mientras que, en el mismo período, el peso vivo únicamente se multiplica por 3 (Mourot y Hermier, 2001). A medida que el cerdo crece, se activan sus enzimas responsables de la lipogénesis, y ésta va cobrando proporcionalmente más importancia. Se han atribuido diferentes factores responsables de esta activación de la lipogénesis, como el cambio de dieta o mediante la inducción hormonal de la insulina (Lakshmanan *et al.*, 1972).

Desde el nacimiento hasta el momento del sacrificio del cerdo (generalmente entre los 90 y 150 kg PV), el crecimiento alométrico de su tejido graso es superior al crecimiento magro de la canal. El desarrollo celular del tejido adiposo tiene lugar en tres fases características sucesivas: una hiperplasia dominante entre los 7 y 20 kg PV, una hiperplasia y una hipertrofia conjunta entre los 20 y 70 kg PV y una hipertrofia dominante a partir de los 70 kg PV (Anderson *et al.*, 1972; Lee y Kauffman, 1974; Mersmann, 1986; Hauser *et al.*, 1997). Por lo tanto, el incremento del depósito graso durante el crecimiento del cerdo, es principalmente consecuencia del llenado del adipocito o hipertrofia, si bien la hiperplasia es muy difícil de diferenciarse experimentalmente. En este sentido, Hauser *et al.* (1997) evidenciaron una correlación entre el peso vivo del animal y la evolución del diámetro de los adipocitos de diferentes

depósitos grasos, que sirve de referencia para la interpretación del grado de maduración del tejido.

El aumento en la cantidad de tejido adiposo depositado se acompaña de un aumento en la capacidad lipogénica de este tejido. Scott *et al.* (1981) observaron que con la edad, la capacidad lipogénica del tejido adiposo aumenta hasta un máximo a los 4 meses de edad, mientras que la lipolítica disminuye. Otros autores han situado este máximo algo más tarde, a los 5-6 meses de edad (Anderson y Kauffman, 1973). En general, es un parámetro muy ligado a la raza animal, y cada raza presentará el valor de expresión máximo en un momento diferente. Así por ejemplo, Mourot *et al.* (1996) compararon la evolución de la capacidad lipogénica en dos razas, Large White y Meishan, como representantes de una raza magra y otra grasa, respectivamente. Los cerdos Meishan expresaron su máximo potencial de síntesis grasa a los 20 kg, mientras que los cerdos Large White no lo alcanzaron hasta los 40 – 60 kg.

En cuanto a la evolución de la composición de la grasa depositada, parece lógico que los AG procedentes de la síntesis endógena tendrán una tendencia a incrementar con la edad del animal, mientras que los procedentes de la grasa del alimento serán, proporcionalmente, cada vez menos importantes. Por lo tanto, el perfil de la canal del animal será, pues, más fácilmente manipulable a través del alimento en los primeros estadios de desarrollo del animal, cuando la síntesis endógena no es tan importante. En este sentido, Scott *et al.* (1981) estudiaron el perfil en AG de la grasa dorsal en cerdos entre los 3 y 6 meses de vida. Observaron como con la edad se produce un aumento del grado de saturación de la grasa dorsal, mientras que el contenido en AGMI tiende a permanecer constante.

Por lo tanto, la consistencia de la grasa aumenta con la edad del cerdo. Esto se debe tanto a un aumento del tejido conjuntivo como a la disminución proporcional descrita en el contenido de AG insaturados. Por otro lado, el efecto de la edad sobre el perfil en AG también varía con la raza del animal. Así por ejemplo, Chauvel y Saulnier (1989) observaron que la consistencia de la grasa aumentaba antes en la raza Landrace francesa que en la Landrace belga.

### Sexo

Al igual que ocurría con la edad, también se han observado diferencias en el engrasamiento asociadas al sexo o estado hormonal de los animales. En general, para un mismo peso corporal y para todas las especies zootécnicas, las hembras son más grasas que los machos y, en el caso de los cerdos, menos que los machos castrados (Bucharles *et al.*, 1985; Wood *et al.*, 1986).

El cerdo adquiere la madurez sexual entre los 6 y 7 meses promovida por un fuerte incremento de la cantidad de 5- $\alpha$ -androsteno. El objetivo de la castración es eliminar los malos olores de origen sexual característico de los machos enteros y provocados, entre otros componentes, por este esteroide (Desmoulin *et al.*, 1983). Sin embargo, la castración promueve a su vez otros efectos, como el aumento de la adiposidad, de la ingestión voluntaria de alimento y la disminución en el rendimiento de carne magra. En este sentido, Bonneau y Desmoulin (1982) observaron que la castración precoz de los cerdos macho supone un consumo de alimento suplementario de unos 30 kg por cerdo y una reducción del orden del 7% del contenido magro de la canal.

Las diferencias observadas entre sexos se acentúan con la edad, a medida que aumenta el grado de adiposidad del animal. Entre machos enteros y castrados, se ha observado que las diferencias son menores en las primeras fases de crecimiento, hasta alcanzar los 60 – 80 kg de peso vivo (Desmoulin, 1984). Por lo tanto, el peso de sacrificio óptimo estará notablemente influenciado por el sexo del animal.

Por otro lado, también se han observado diferencias en el perfil lipídico de los diferentes depósitos grasos entre sexos. En general, en la grasa subcutánea los machos contienen una proporción superior de PUFA que los castrados, mientras que las hembras presentan una proporción intermedia (Malmfors *et al.*, 1978). En el perfil de AG de la grasa intramuscular no todos los autores consultados han observado diferencias entre sexos (Kondracki, 2000), pero en general sigue la misma tendencia que el depósito subcutáneo (Malmfors *et al.*, 1978; Warnants *et al.*, 1996)

### Determinación genética

Entre las diferentes razas porcinas, existen líneas de elevado potencial de crecimiento proteico y líneas cuyo crecimiento magro es más limitado. Estas últimas se caracterizan por ser líneas grasas, que presentan crecimientos más lentos, peores índices de conversión, mayor tamaño de adipocitos y hasta el doble grosor de grasa dorsal que las

líneas magras. El cerdo ibérico es un ejemplo de este tipo de razas. Se trata de un cerdo autóctono de la Península Ibérica, adaptado a conseguir un elevado aprovechamiento del ecosistema natural de encinas y alcornoques que constituyen la dehesa. Una de las características más sobresalientes del cerdo ibérico es su engrasamiento. En las fases finales del engorde (150 – 180 kg PV) pueden alcanzar un 60% de grasa en la canal, 15 cm de espesor de grasa subcutánea dorsal y valores de grasa intramuscular superiores al 10 – 13% (López-Bote, 1998). Son valores que la selección genética ha pretendido penalizar en las razas mejoradas (Tabla 1.10).

**Tabla 1.10** – Comparación del engrasamiento del cerdo ibérico y landrace.

	LANDRACE	IBÉRICO
<b>Espesor grasa subcutánea (cm)</b>		
30 - 40 kg	1,8	-
70 - 80 kg	-	2,5
90 - 100 kg	1,9 - 2,0	3,2 - 4,5
110 - 115 kg	2,0 - 2,1	4,7 - 5,4
130 - 140	2,2 - 2,3	5,6 - 5,7
150 - 160 kg	-	6,6 - 7,8
180 kg	-	8,0 - 15,0
<b>Grasa intramuscular (%)</b>		
90 - 100	1,5 - 1,9	3,6 - 4
130 - 140 kg	2,0 - 2,1	-
150 - 160 kg	-	10,0

Aparicio-Macarro, 1970; Malmfors et al., 1978; López-Bote, 1998; Serra et al., 1998; Lizaso, 2000.

La constancia de su patrón de depósito en diferentes ambientes demuestra una participación genética en estos parámetros. Andersson *et al.* (1994) evidenciaron una localización en el genoma responsable en gran medida de las diferencias fenotípicas existentes en velocidad de crecimiento, depósito de grasa y longitud del intestino delgado entre el jabalí europeo y la raza europea seleccionada Large White.

Recientemente ha sido demostrada también la participación génica en la composición corporal entre líneas grasas y magras (Pérez-Enciso *et al.*, 2000; Ovilo *et al.*, 2000). En concreto, Pérez-Enciso *et al.* (2000) atribuyeron a una área localizada en el cromosoma 4 las diferencias en la cantidad de grasa total existentes entre el cerdo ibérico, una raza característicamente grasa no mejorada, y el landrace, raza magra. En concreto, el estudio determinó un 15% de las diferencias en la cantidad de grasa corporal asociadas a esta área del genoma.

Por otro lado, también se ha evidenciado un componente genético que determina el depósito de grasa intramuscular. En concreto, Ovilo *et al.* (2000) localizaron una área en el cromosoma 6 responsable de hasta un 20% de las diferencias existentes en el contenido de grasa intramuscular entre el cerdo ibérico y el landrace.

Hasta el momento, se desconocen los mecanismos de expresión mediante los cuales estos genes pueden manifestar sus efectos sobre los diferentes depósitos grasos y ser responsables de las evidentes diferencias entre razas magras y grasas. Se ha demostrado que forman parte de la biosíntesis grasa o bien de rutas metabólicas asociadas a ella. Mourot *et al.* (1996; 1998) estudiaron la actividad de la acetil-CoA carboxilasa, enzima responsable del primer paso de la síntesis de AG (ver Figura 1.5), y del enzima málico y la glucosa-6-fosfato deshidrogenasa, de la ruta del fosfogluconato (que aportan el poder reductor necesario para la síntesis lipídica). La actividad de estos enzimas fue siempre superior en la raza Meishan, raza grasa no seleccionada, respecto al Large White, tanto en los diferentes depósitos adiposos (Mourot *et al.*, 1996) como a nivel muscular (Mourot y Kouba, 1998).

A su vez, la diferente capacidad de ingestión voluntaria entre razas grasas y magras contribuye en gran medida en la diferente cantidad de grasa corporal depositada. Entre los mecanismos que posiblemente intervienen en la regulación fisiológica de la ingestión voluntaria, se ha descrito la contribución de la leptina. En concreto, se ha señalado que la leptina es una proteína secretada por el tejido adiposo a la circulación sanguínea, que estimula la saciedad y reduce la ingestión de alimento en cada comida sin modificar su frecuencia (Romsos, 1998). Los efectos metabólicos que pueden desencadenar son variados, atribuyéndose a la leptina la capacidad de incrementar el ritmo metabólico (fundamentalmente en neonatos) y reducir el porcentaje de grasa corporal (Pelleymounter *et al.*, 1995). Es posible que diferencias entre razas en la producción de leptina, u otros intermediarios, o en la sensibilidad tisular a ellos, puedan intervenir en las diferencias metabólicas observadas entre cerdos de líneas magras y grasas.

**Factores extrínsecos**

Si bien los estudios anteriores reflejan una indudable contribución genética, no cabe duda que, en última instancia, la expresión enzimática de la síntesis de grasa termina enmarcándose en condiciones ambientales particulares, entre las que son dominantes el alimento y las condiciones de producción.

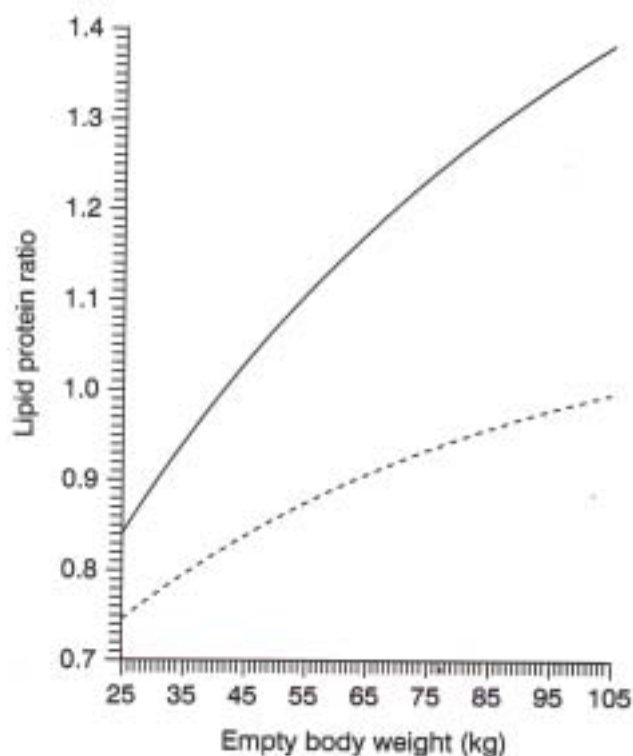
Alimentación

Entre los factores determinantes del engrasamiento, sobresalen el nivel de alimentación y las características del alimento.

*- Régimen de alimentación*

Puede generalizarse que el nivel de ingestión es el factor más importante sobre el engrasamiento. El grado de deposición de grasa depende del balance entre la energía ingerida y los requerimientos metabólicos. La energía que no es utilizada para mantenimiento y crecimiento magro, se deposita en forma de grasa. Las razas seleccionadas contra la deposición de grasa, indirectamente también lo han sido hacia una menor capacidad de ingestión. Las razas no seleccionadas para optimizar el crecimiento, como el cerdo ibérico, presentan menores requerimientos destinados al crecimiento magro y un mayor apetito (Odriozola *et al.*, 1969). Ambos aspectos influyen en su elevado grado de engrasamiento. Tal y como se observa en la Figura 1.6, el grado de deposición lipídica en función del peso depende en gran medida de la capacidad de ingestión voluntaria de alimentos.

**Figura 1.6** – Relación entre el cociente del depósito de grasa y de proteína (Lipid protein ratio; kg / kg) en función del peso vivo vacío para consumos elevados (—) y bajos (- - -) (Schinckel, 1994)



#### - Grasa

Por otro lado, se ha demostrado en múltiples estudios los distintos efectos que pueden ejercer las características nutritivas de la ración sobre los diferentes depósitos grasos. Diferentes componentes del alimento pueden afectar tanto al engrasamiento global, como a su distribución y a sus características.

En primer lugar, y posiblemente el de mayor importancia, el contenido de grasa de la ración. La cantidad de grasa presente en el alimento condicionará el origen de la grasa depositada, ya que juega un importante papel en la regulación de la síntesis *de novo* de los AG, ejerciendo un efecto inhibitor (Smith *et al.*, 1996; Hudgins *et al.*, 2000). Se considera que cuando hay un bajo contenido de grasa añadida en la dieta (inferior a un 4%), el perfil de AG de los diferentes depósitos grasos del animal sería mayoritariamente saturado, ya que procedería de la síntesis endógena. Sin embargo, las altas concentraciones de grasa dietética inhibe los enzimas de la lipogénesis, concretamente de la Acetil-CoA carboxilasa, por lo que el origen de los AG presentes



en los tejidos del animal será fundamentalmente el aporte dietético (Alle *et al.*, 1971; Wood, 1984). En el mismo sentido, St. John *et al.* (1987) y Miller *et al.* (1990) observaron que los animales alimentados con dietas sin grasa añadida presentaban un contenido en AGS en la grasa dorsal superior a los animales alimentados con dietas suplementadas con unos niveles de inclusión de grasa de un 10 y un 20%, respectivamente, siendo las diferencias estadísticamente significativas.

Por otro lado, se han realizado numerosos trabajos sobre el efecto que ejerce el perfil de la grasa dietética sobre el engrasamiento. En general, se ha evidenciado la posibilidad de modificar el perfil de AG del depósito mediante el depósito directo de los AG procedentes de la dieta, en concreto de los AGPI (Morgan *et al.*, 1992; Warnants *et al.*, 1996; Fontanillas *et al.*, 1997). Sin embargo, algunos AG concretos del alimento pueden ejercer un efecto específico sobre el engrasamiento. En este sentido, Smith *et al.* (1996) observaron que AG de cadena corta y media promueven un menor engrasamiento corporal, tanto por una inhibición de la síntesis endógena, como por una disminución de la sensibilidad a la insulina por parte de los tejidos, respecto a los AG de cadena larga y muy larga (> 18 átomos de carbono). No está tan claro el efecto que ejerce la insaturación de la grasa sobre el engrasamiento corporal. Estudios en aves han evidenciado una disminución progresiva del depósito graso al incrementar el grado de insaturación de la grasa dietética. Este efecto se observa especialmente para las grasas separables, en concreto la grasa abdominal (Crespo y Esteve-García, 2002). Sin embargo, algunos estudios también han evidenciado un descenso del contenido graso intramuscular en broilers (Sanz *et al.*, 1999). En cerdos, algunos trabajos han señalado el efecto opuesto: un incremento de la grasa corporal cuanto más insaturada es la grasa añadida en el alimento, y en concreto al incrementar el aporte de ácido linoleico dietético (Kouba y Mouro, 1998). Además de una mayor proporción de ácido linoleico en todos los depósitos grasos, los autores observaron que el linoleico promovía un incremento de la actividad síntesis grasa y del contenido lipídico total en el depósito graso subcutáneo, sin apreciarse diferencias en la grasa intramuscular. A falta de datos más concluyentes, es un tema de interés actual que se sigue analizando.

#### - Proteína

A su vez, se ha descrito el efecto que pueden ejercer otros constituyentes del alimento, como su contenido en proteína, sobre el engrasamiento. Se ha observado que bajos contenidos en el pienso promueven un incremento en el contenido total de grasa corporal (Essen-Gustavsson *et al.*, 1994; Cisneros *et al.*, 1996). En general, dietas

desequilibradas favorecen el engrasamiento. En el caso de un bajo contenido en proteína, se produce un freno al crecimiento magro, por lo que habrá un exceso de energía que será depositado en forma de grasa. Se ha hipotetizado también sobre un posible efecto sobre la distribución final de la grasa corporal. En este sentido, Cisneros *et al.* (1996) plantearon la posibilidad de favorecer el depósito de grasa intramuscular, sintetizada a partir de aminoácidos como principales precursores. A partir de una dieta deficiente en aminoácidos esenciales y con exceso de proteína, observaron que el depósito graso intramuscular se incrementaba, ya que el organismo disponía de gran cantidad de aminoácidos que no podía utilizar para síntesis proteica.

#### - Carbohidratos

Por último, el contenido en carbohidratos del alimento ejerce un importante efecto sobre el engrasamiento del animal ya que, como hemos visto anteriormente, constituyen el principal substrato para la síntesis grasa en la alimentación del ganado porcino. Se considera como norma general que dietas ricas en carbohidratos estimulan la actividad enzimática de síntesis grasa del cerdo (Alle *et al.*, 1971; Kouba y Mouro, 1998). De hecho, se ha demostrado tanto *in vitro* como *in vivo*, que la transcripción de estos enzimas en el tejido adiposo y en el hígado es estimulada por la glucosa (Girard *et al.*, 1997). En ratas, la inducción de la transcripción de enzimas lipogénicos por los carbohidratos del pienso es muy rápida, entre 4 y 6 horas. El estímulo directo no lo ejerce la glucosa, sino su inmediato metabolito, la glucosa-6-fosfato. El nivel de insulina, pese a no tener un efecto directo, puede ejercer un papel importante ya que estimula este paso. Piensos con altos porcentajes de carbohidratos son capaces de estimular la síntesis de enzimas que participan activamente en la lipogénesis, como son la acetil-CoA carboxilasa, el enzima málico y la glucosa-6-fosfato deshidrogenasa (Towle *et al.*, 1997).

El tipo de carbohidratos presentes en el alimento también puede ejercer un efecto sobre el metabolismo lipídico. En este sentido, Ramsey *et al.* (1990) estudiaron el efecto de tres dietas que diferían únicamente en el tipo de cereal que las constituía (maíz, sorgo o trigo), sobre parámetros grasos de la canal. Los cerdos alimentados con maíz presentaron un mayor desarrollo muscular, mientras que los que fueron alimentados con trigo presentaron una mayor infiltración de grasa intramuscular. En general, se considera que la cantidad de grasa sintetizada está determinada tanto por la cantidad de carbohidratos de la dieta, como el tipo de estos carbohidratos (Hudgins *et al.*, 1998; Hudgins *et al.*, 2000). En concreto se ha estudiado la actividad de síntesis grasa con

dietas que variaban en su fuente de carbohidratos: azúcares libres o de cadenas muy cortas, almidón y fibra. Estudios en ratas han evidenciado la mayor estimulación de la síntesis grasa por dietas ricas en azúcares respecto a dietas ricas en almidón, especialmente con un aporte de grasa nulo (Glinsmann *et al.*, 1986). Sin embargo, en humanos no parece tan evidente. Se ha observado un incremento de la lipogénesis al sustituir parte del contenido de azúcar por almidón, si bien fue un parámetro muy variable, que dependía de múltiples factores como el tipo de azúcares, almidón, grasa, e incluso la sensibilidad individual a la insulina (Truswell, 1994; Frayn y Kingman, 1995). Las diferencias en la síntesis de AG pueden estar inducidas por diferencias en el flujo de la glucosa o en el metabolismo de la insulina. Por otro lado, dietas con fuentes de carbohidratos más complejos, como fibra o almidón resistente, promoverán una superior fermentación microbiana en el intestino grueso, resultando en la producción de ácidos grasos de cadena corta. A pesar de la contrastada posible participación del acetato como precursor de la síntesis grasa, como se ha señalado anteriormente, resultados recientes de Hudgins *et al.* (2000) atribuyen a la fibra un efecto negativo sobre la lipogénesis. En este sentido, estudios *in vitro* han evidenciado un efecto inhibitorio del propionato sobre la síntesis grasa (Nishina y Freedland, 1990).

Por lo tanto, es más que probable que los carbohidratos de la dieta puedan modificar tanto el contenido de grasa total como sus características, así como su distribución corporal. Es interesante profundizar en su estudio, ya que promover una distribución más favorable, incrementando la grasa intramuscular sin modificar el contenido total, es un objetivo de gran interés en la producción actual de carne de cerdo.

## **CAPÍTULO 2**

### **OBJETIVOS Y PLANTEAMIENTO EXPERIMENTAL**

---

## **OBJETIVOS Y PLANTEAMIENTO EXPERIMENTAL**

El presente trabajo tiene por objetivo general evaluar la influencia del tipo de alimentación, y en especial de las características de su fracción de carbohidratos, sobre los parámetros productivos y las estrategias digestivas y metabólicas utilizadas por dos razas porcinas bien diferenciadas. El trabajo planteado tiene por finalidad una primera valoración de la posibilidad de mejorar, a través de la alimentación, la calidad de los productos cárnicos del ganado porcino. En concreto, tomando como referencia al cerdo ibérico y sus productos de calidad contrastada, en especial la de aquellos criados en montanera, se pretende incidir sobre razas altamente seleccionadas genéticamente, en las que sería deseable una distribución más favorable de la grasa corporal.

Los objetivos concretos del trabajo fueron:

- 1 – Valorar la influencia de dos raciones que únicamente difieren en el tipo de carbohidratos (maíz vs. sorgo-bellota) sobre los rendimientos productivos (ganancia de peso, consumo e índice de conversión), de dos razas porcinas, una raza rústica con gran capacidad de engrasamiento (ibérico) y una raza seleccionada para un elevado potencial de crecimiento magro (Landrace).
- 2 – Determinar las estrategias digestivas utilizadas por ambas razas. Valorar la influencia del tipo de carbohidratos sobre la distribución anterior / posterior de esta digestión.
- 3 – Estudiar el efecto de cada una de las raciones sobre la fermentación en el tracto digestivo posterior de ambas razas.
- 4 – Valorar los diferentes efectos, la raza, y el tipo y cantidad de nutrientes absorbidos, sobre el depósito graso de la canal y su distribución.

Para el desarrollo de estos objetivos se planteó un experimento de producción y sacrificio constituido por dos períodos experimentales, que permitiera profundizar en el estudio de los diferentes parámetros digestivos y metabólicos. Cada uno de los períodos experimentales se desarrolló con 24 cerdos, 12 de raza landrace y 12 ibéricos, a los que se administraron dos raciones experimentales constituidas por carbohidratos

de mayor y menor digestibilidad ileal. Una de las dietas estaba constituida básicamente por maíz (dieta MZ), mientras que en la segunda, parte del maíz se reemplazaba por sorgo y bellota (dieta SB). El experimento propone, por lo tanto, un diseño factorial animal x dieta, que permita identificar efectos intrínsecos de ambos factores y su posible interacción. El desarrollo del experimento se realizó en una etapa definida del crecimiento, como es el período final, donde es de esperar puedan observarse mayores diferencias en su engrasamiento. En concreto, el primer período experimental se desarrolló entre los 90 y 110 kg de peso vivo (PV), mientras que el segundo, desde los 110 hasta los 135 kg PV, aproximadamente. En el segundo período, se incorporó una mayor cantidad de bellota en la dieta SB, principalmente en detrimento del maíz.

El desarrollo del experimento se dividió en cinco fases diferenciadas, con el fin de analizar por separado y con mayor detalle cada uno de los parámetros digestivos y metabólicos estudiados:

En una primera fase, englobada en el **Capítulo 3**, se evaluó el efecto de las raciones experimentales sobre los parámetros productivos de los animales, así como ciertos parámetros digestivos que permitieran definir las estrategias empleadas por ambas razas, centrándose únicamente en el primer período experimental. En concreto, se pretendió identificar los diferentes substratos energéticos de los que disponían los animales, mayoritariamente glucosa absorbida directamente en el intestino delgado, y acetato procedente de la fermentación microbiana en el tracto digestivo posterior. A su vez, se analizó la actividad enzimática de síntesis de grasa en diferentes depósitos lipídicos (subcutáneo, intermuscular e intramuscular), como primera aproximación al estudio de la respuesta promovida por los factores raza y dieta en el engrasamiento y su distribución corporal.

En la segunda fase, incluida en el **Capítulo 4**, se profundizó en el estudio de los mecanismos digestivos, en especial de aquellos involucrados en la fermentación de los carbohidratos en el tracto digestivo posterior. También se centró únicamente en el primer período experimental. El principal objetivo de esta fase fue evaluar con mayor precisión las estrategias digestivas de ambas razas para digerir cada una de las raciones, así como identificar y también cuantificar los diferentes substratos producidos.

La tercera fase, incluida en el **Capítulo 5**, tuvo el mismo objetivo que la anterior, analizando los mismos mecanismos digestivos en el segundo período experimental, cuando se introdujo un mayor aporte de bellota en la dieta SB.

La cuarta fase, englobada en el **Capítulo 6**, pretende estudiar y valorar el tipo de fermentación que tiene lugar en el ciego de los animales, reproduciendo *in vitro* la situación que se estaba produciendo en el tracto digestivo de los animales.

Por último, la quinta fase, descrita en el **Capítulo 7**, tuvo como principal objetivo el estudio de los cambios producidos en los depósitos grasos de la canal al final del experimento, así como valorar el origen de los mismos. Se pretende analizar el efecto del tipo de carbohidratos del alimento sobre aquellos parámetros grasos de la canal que, de alguna manera, intervienen sobre la contrastada calidad de los productos del cerdo ibérico. A su vez, se analiza en que medida afecta al cerdo landrace.

## CAPÍTULO 3

Comparación de la digestibilidad y la actividad lipogénica en cerdos de acabado Landrace e Ibéricos alimentados ad libitum con dietas basadas en maíz y maíz-sorgo-bellota.

MORALES, J.; PÉREZ, J. F.; BAUCCELLS, M. D.; MOUROT, J. y GASA, J. 2002.  
**Comparative digestibility and lipogenic activity in Landrace and Iberian finishing pigs fed *ad libitum* corn- and corn-sorghum-acorn based diets**  
Livestock Production Science. 2002. *En prensa.*

---



**ABSTRACT**

Forty-eight finishing castrated male pigs (24 Iberian and 24 Landrace; 88.4 kg LW) were fed two diets differing in main carbohydrates sources, corn- (Diet C) or corn-sorghum-acorn (Diet A). After 28 days of experimental period, 24 animals (6 per treatment) were slaughtered and digesta and carcass sampled to study digestion and lipogenesis activity. Iberian pigs showed a higher voluntary feed intake than Landrace pigs (3.5 vs. 2.7 kg/d;  $P < 0.01$ ), but no significant differences in the daily weight gain. Between diets, no significant differences were observed in the production data. However, the whole-tract digestibility was significantly lower with Diet A than with Diet C for OM, CP and monosaccharides. Whole-tract apparent digestibility of Iberian pigs was also significantly lower than of Landrace ( $P < 0.01$ ), especially for those animals fed Diet A. As a result of feed intake and digestibility coefficients, Iberian pigs showed a higher intake of digestible OM (2910 g/d) than Landrace (2310 g/d), which was associated with higher ( $P < 0.05$ ) backfat thickness, muscle fat content, and lipogenic enzyme activities. Lipogenesis was not broadly influenced by the dietary treatments, except a significant decrease in the intermuscular adipose tissue with diet A. We conclude that digestibility and lipogenic enzymes activities were markedly influenced by the animal breed and to a lesser extent by the diet.

### 3.1. INTRODUCTION

The Iberian pig is an indigenous breed (sexual maturity, 45-50 kg; slaughter weight, 160-180 kg) from the Southwest Iberian Peninsula traditionally fattened in field conditions. Feed provided by the "dehesa" (pasture) consists mostly of acorns and grass, which contain high amounts of fermentable fiber, resistant starch and oleic acid (López-Bote, 1998). In field conditions, Iberian pigs consume up to 10 kg of acorns, which accounts for 70 to 80% of the daily feed intake (Benito, 1996). Meat of the Iberian pig and its products have high consumer acceptability, generally attributed to the high intramuscular fat content and composition (Serra et al., 1998). In contrast, intensive swine production and selection based on lean growth rate have led to a significant decrease in the intramuscular fat content of commercial breeds (Karlsson et al., 1993). Although most of these differences are probably genetic (Ovilo et al., 2000), diet may also have an effect (Pond et al., 1988).

Dietary factors influencing protein and fat accretion have been studied extensively, and most authors examined the enrichment of meat with polyunsaturated fatty acids (Fontanillas et al., 1997) or fat-soluble vitamins (O'Sullivan et al., 1997). However, high-lipid diets decrease endogenous lipogenesis (Allee et al., 1971), which reflects the predominant role of carbohydrates in "*de novo*" fatty acids synthesis. For most lipogenic enzymes, an increase in glucose metabolism is required to induce transcription (Towle et al., 1997). Glucose is the main carbohydrate absorbed, but other nutrients such as volatile fatty acids (VFAs) from gut fermentation also supply energy. Yen et al. (1991) estimated that VFAs accounted for 24% of total heat production in pigs weighing 37.4 kg LW fed a corn-soybean meal diet, while higher contributions may be established with diets containing more complex carbohydrates, as those fed by Iberian pigs in field conditions. However, some authors (Pond et al., 1988; Varel et al., 1988) have reported genetic differences (lean vs. obese) in their digestibility response to high-fiber diets.

This experiment was undertaken to examine the effects of genotype (Landrace and Iberian finishing pigs) and dietary carbohydrates (corn vs. corn-sorghum-acorn based diets) on: 1/ gastrointestinal adaptations; 2/ digestibility and fermentation parameters, and 3/ lipogenic enzyme activities in adipose and muscular tissues.

### 3.2. MATERIALS AND METHODS

The experiment was approved by the Animal Protocol Review Committee of the Universitat Autònoma de Barcelona. The treatment, housing, husbandry and slaughtering conditions conformed to the European Union guidelines.

Forty-eight finishing castrated male pigs (24 Landrace, 24 Iberian; mean weight  $37.7 \pm 5.9$  kg LW) were housed in an environmentally controlled building and fed a commercial preexperimental diet, based on cereals and vegetable protein. Diet was offered *ad libitum* to the Landrace but restricted to some animals of the Iberian pig set (75% voluntary intake) due to the more heterogeneous voluntary feed intake of this breed. The resultant average daily gain in the preexperimental period was 0.75 kg for Landrace and 0.55 kg for Iberian. Therefore, with a short lag time (2-3 weeks), Landrace reached the initial experimental weight ( $89.8 \pm 5.6$  kg LW) at about 150 days age, and Iberian ( $86.9 \pm 6.9$  kg LW) at about 195 days age. Pigs were housed in 12 pens (4 animals/ pen), randomly divided in a 2 x 2 factorial arrangement with two diets fed *ad libitum*, either a corn- (Diet C) or a corn-sorghum-acorn- (Diet A) based diet (Table 3.1).

As indicated in Table 3.1, diet C contained mostly corn (75.4%) and diet A contained corn (37.6%), sorghum (27.5%) and semidecorticated acorn of genus *Quercus* (12.5%). Nutrient composition of main ingredients is presented in Table 3.2. The shell proportion of ground acorns was reduced by rough grinding (down to 13%). In order to equilibrate the composition of the non-carbohydrate fraction between diets, in particular oleic acid and shells from acorn and linoleic acid from corn, olive oil and isolated shells were added to Diet C and corn oil to Diet A. All mixed diets were ground and included 0.15% of  $\text{Cr}_2\text{O}_3$  as digestibility marker.

**Table 3.1** - Percentage composition and nutrient content (%DM) in the experimental diets (Diet C and Diet A).

Ingredient	Diet C	Diet A
Corn	75.36	37.64
Sorghum	-	27.50
Semidecorticated Acorn	-	12.50
Acorn shell	1.50	-
Soybean meal	19.74	19.47
Corn oil	-	0.70
Olive oil	1.20	-
CO <sub>3</sub> Ca	0.74	0.68
Dicalcium phosphate	0.68	0.73
Salt	0.23	0.23
Vitamin/mineral mix <sup>a</sup>	0.40	0.40
Chromium III oxide	0.15	0.15
<b>Nutrient analysis</b>		
Crude protein	16.19	17.19
Lysine	0.73	0.70
Lignin	1.44	1.82
Glucose	62.62	57.89
Soluble	56.10	51.34
Fibre	6.52	6.55
Others monosaccharides <sup>b</sup>	6.35	5.99
Resistant starch	10.68	10.65
Tannins <sup>c</sup>	0.39	0.88
Crude fat	5.24	5.33
Metabolizable energy (kcal/kg)	3154	3164

<sup>a</sup>Vitamin/mineral mix provided the following per kg of diet: vitamin A, 7,000 IU; vitamin D<sub>3</sub>, 1,800 IU; vitamin E, 10 mg; vitamin K<sub>3</sub>, 1 mg; vitamin B<sub>1</sub>, 1 mg; vitamin B<sub>2</sub>, 4 mg; vitamin B<sub>6</sub>, 2 mg; vitamin B<sub>12</sub>, 20 µg; biotin, 10 µg; niacin, 18 mg; Ca-d-pantothenic acid, 10 mg; choline, 175 mg. Minerals: Fe, 80 mg; Zn, 110 mg; Cu, 90 mg; Mn, 50 mg; Co, 0.1 mg; I, 1 mg; Se, 0.2 mg. 150 mg of Etoxiquin® and 500 mg de Luctamold® per kg of feed were added to both diets.

<sup>b</sup>Other monosaccharides contain galactose, arabinose, xylose, mannose, rhamnose and fucose.

<sup>c</sup>Quercitannic acid (%)

Feed intake by pen (3 / treatment) and individual live weight (LW) were recorded every two weeks and average daily weight gain (12 / treatment) and feed conversion ratios (3 / treatment) calculated. After 28 days, 24 animals (6 per treatment) were slaughtered at an average weight of 107.0 kg LW in a commercial slaughterhouse, without previous

fasting and after CO<sub>2</sub> stunning. Backfat was measured near the 15<sup>th</sup>-16<sup>th</sup> costal area and adipose and muscular tissue were sampled, with an average delay time from slaughter of 30 min. Adipose tissue samples were taken from subcutaneous backfat, and intermuscular fat from the neck region (ventro-medial to the *Semispinatus* muscle). Two muscle samples were also simultaneously taken from the *Semimembranosus* and the *Gluteus medius* muscles. Samples were immediately frozen in liquid N<sub>2</sub> and stored at –80°C until analysis of lipogenic activity. The whole gut was excised and stomach, small intestine, caecum and colon were ligated, removed and weighed. Caecal, colonic (proximal, medium and distal) and rectal digesta samples were acidified with H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> (approximately 4 g fresh weight digesta /1mL of 5% H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>, 50mM 3 methyl valerate as internal standard) and stored at –20°C until analysis for VFA concentration. Finally caecal, colonic and rectal digesta were collected, weighed and samples were taken and freeze-dried before analysis for DM, OM, CP, chromium and monosaccharides.

**Table 3.2** - Percentage nutrient content (%DM) of the main ingredients of the experimental diets

Nutrient Analysis	Decorticated Acorn	Shell Acorn	Maize	Sorghum
CP	6.47	3.32	8.53	13.40
Lignin	1.99	30.40	1.23	1.30
Monosaccharides				
Glucose	56.97	3.90	74.03	67.90
Soluble	39.64	1.43	63.50	56.35
Fibre	17.33	2.47	10.53	11.55
Other	5.07	18.31	5.15	4.24
Resistant starch	21.40	-	19.00	11.84
Tannins <sup>b</sup>	4.34	8.45	-	0.08
Crude fat	10.88	1.44	4.04	2.33

<sup>a</sup>Other monosaccharides contain galactose, arabinose, xylose, mannose, rhamnose and fucose.

<sup>b</sup>Quercitannic acid (%)

Chemical analysis of the diet and digesta were obtained following the methods of the AOAC (1990) for DM, ash, CP, fat and tannins (quercitannic acid, %). Chromium oxide concentration in diet and digesta was analysed following Williams et al. (1962).

Starch and non-starch polysaccharides (referred to as “dietary fibre”) of feed and rectal digesta were analysed by gas-liquid chromatography following Theander (1991). Resistant starch in feed was measured by the method of Berry (1986) modified by Champ (1992). Short chain volatile fatty acids concentration ( $\mu\text{mol} / \text{g}$  fresh matter) in deproteinized caecal digesta was determined by GLC, following Jouany (1982).

Lipogenic enzyme activities of subcutaneous, inter- and intramuscular adipose tissues were determined as follows: weighed quantities of adipose tissue or muscle samples were homogenised in 0.25 M sucrose buffer and centrifuged at  $30,000 \times g$  for 40 min. Supernatants were analysed for malic enzyme (ME, EC 1.1.1.40) and glucose-6-phosphate-dehydrogenase (G6PDH, EC 1.1.1.49) using a modification (Gandemer et al., 1983) of the methods of Fitch et al. (1959), and Hsu and Lardy (1969), respectively. NADPH formation was measured at  $37^{\circ}\text{C}$  by absorbance at 340 nm. Soluble proteins in adipose tissue supernatants were determined using the bicinchoninic acid protein assay (BCA Protein Assay Kit, PIERCE, Rockford, IL). The ME and G6PDH activities were expressed as  $\mu\text{mol}$  of NADPH produced per min per gram of muscular tissue or per gram of supernatant protein from adipose tissue. Muscle and adipose tissue lipid contents were extracted following the Soxhlet procedure.

Whole-tract rectal apparent digestibility of each nutrient fraction (Nf) was calculated by the marker (Cr) ratio method, using the equation:

$$\text{Digestibility Coefficient} = \left[ 1 - \left( \frac{\text{Cr in diet (ppm)}}{\text{Cr in rectum (ppm)}} \times \frac{\% \text{Nf in rectum}}{\% \text{Nf in diet}} \right) \right]$$

Caecal and colonic mean retention time (MRT) was calculated as the mass of Cr present in the compartment divided by Cr intake (Goodlad and Mathers, 1987):

$$\text{MRT (h)} = \frac{\text{amount of Cr}_2\text{O}_3 \text{ in organ (mg)} \times 24}{\text{Cr}_2\text{O}_3 \text{ intake (mg/day)}}$$

The resulting data were subjected to analysis of variance using the GLM procedure of SAS (1996) for a factorial arrangement of treatments. Factors taken into account were the animal breed, the experimental diet and their interaction. For those parameters

registered from individual animals (ADG, digestibilities or lipogenic enzymatic activities) the pen location was included in the statistical analysis. However, when the pen effect was not significant, it was excluded of the analysis. All results are expressed as the mean value. A two-tailed P value of < 0.05 was considered significant.

### 3.3. RESULTS

Iberian pigs showed higher daily feed intake than Landrace pigs (3.5 vs. 2.7 kg/day,  $P < 0.01$ ), with no differences between diets (Table 3.3). No differences were observed between breeds for the average daily weight gain (767 g/day), which accounted for the higher ( $P < 0.05$ ) feed: gain ratios observed in Iberian (4.72) than in Landrace (3.59).

**Table 3.3** - Effect of corn- (C) and corn-sorghum-acorn (A) based diets on the voluntary feed intake (kg/d), weight gain (kg/d) and feed:gain ratio, digestive tract weights % live weight (LW) and mean retention time (MRT; h) of digesta in caecum-colon in Landrace and Iberian finishing pigs

	LANDRACE		IBERIAN		n	s.e.	Statistical differences <sup>a</sup>	
	C	A	C	A			Breed	Diet
LW Initial (kg)	88.7	91.0	86.1	87.7	12	1.84	NS	NS
Final (kg)	105.9	108.5	108.3	108.1	12	2.11	NS	NS
Feed Intake	2.63	2.77	3.46	3.53	3	0.199	**	NS
Daily gain	0.76	0.77	0.81	0.74	12	0.044	NS	NS
Feed:gain	3.58	3.60	4.32	5.13	3	0.488	*	NS
Weight (%LW)								
Whole Tract	8.52	9.19	8.61	8.37	6	0.381	NS	NS
Full stomach	1.20	1.36	1.99	2.20	6	0.235	**	NS
Full caecum-colon	3.63	4.10	3.12	2.96	6	0.220	**	NS
Caecum-colon digesta	2.03	2.51	1.58	1.41	6	0.195	***	NS
Caecum-colon MRT (h)	23.2	18.5	12.1	5.4	6	1.68	***	**

<sup>a</sup>Interaction (breed x diet) was not significant ( $P < 0.05$ ) for all these variables.

\*,  $P < 0.05$ ; \*\*,  $P < 0.01$ ; \*\*\*,  $P < 0.001$ .

Table 3.3 also presents the full whole-digestive tract, stomach and caecum-colon weights (% LW). No differences ( $P > 0.05$ ) were observed between breeds or experimental diets in whole-digestive tract weight. However, the full stomach of Iberian pigs was heavier than that of Landrace pigs (2.10 vs. 1.23 % LW;  $P < 0.01$ ) while full caecum-colon was lighter (3.04 vs. 3.86 % LW, respectively;  $P < 0.01$ ). No significant differences were observed between experimental diets in any of the digestive compartments.

Whole-tract digestibility coefficient of OM (Table 3.4) was higher ( $P < 0.01$ ) for Landrace (0.856) than for Iberian pigs (0.832), and for Diet C (0.856) than for Diet A (0.832). Differences in the OM digestibility were associated with differences in the whole-tract digestibility of CP and individual monosaccharides, mainly from the dietary fibre. Differences between diets in the whole-tract digestibility of carbohydrates were specially pronounced in Iberian pigs (diet x breed interaction,  $P < 0.01$ ).

**Table 3.4** - Effect of corn- (C) and corn-sorghum-acorn (A) based diets on whole-tract digestibility coefficients of organic matter (OM), crude protein (CP), and monosaccharides contained in the starchy (soluble) or dietary fibre (fibre) fractions

	LANDRACE		IBERIAN		s.e.	Statistical differences <sup>a</sup>		
	C	A	C	A		Breed	Diet	Inter. <sup>b</sup>
OM	0.862	0.850	0.850	0.815	0.009	**	**	NS
CP	0.787	0.744	0.775	0.673	0.021	*	***	0.10
Monosaccharides								
Glucose	0.996	0.985	0.969	0.937	0.004	***	***	**
Starch	0.999	0.994	0.995	0.981	0.002	***	***	*
Fibre	0.966	0.927	0.717	0.532	0.039	***	**	*
Others <sup>c</sup>	0.622	0.518	0.448	0.275	0.046	***	**	NS

<sup>a</sup>n=6

\*,  $P < 0.05$ ; \*\*,  $P < 0.01$ ; \*\*\*,  $P < 0.001$ .

<sup>b</sup>Inter.,  $P$  breed x diet interaction.

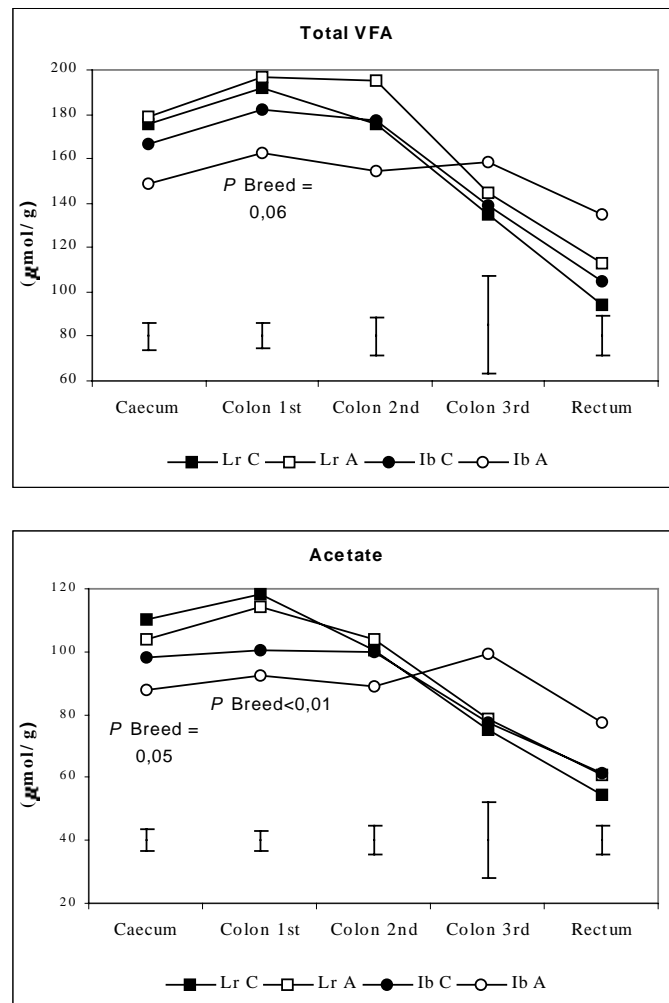
<sup>c</sup>Other monosaccharides contain galactose, arabinose, xylose, mannose, rhamnose and fucose.

The volatile fatty acid concentrations in hindgut digesta (Figure 3.1) ranged between 90 and 200  $\mu\text{mol/g}$ , being the highest in the proximal and medium colon digesta, and decreasing progressively as digesta reached the rectal compartment. This change was



less pronounced in Iberian pigs fed Diet A. Concentrations in proximal colon of VFA in general ( $P = 0.06$ ) and acetate in particular ( $P < 0.01$ ), tended to be lower in Iberian than in Landrace pigs.

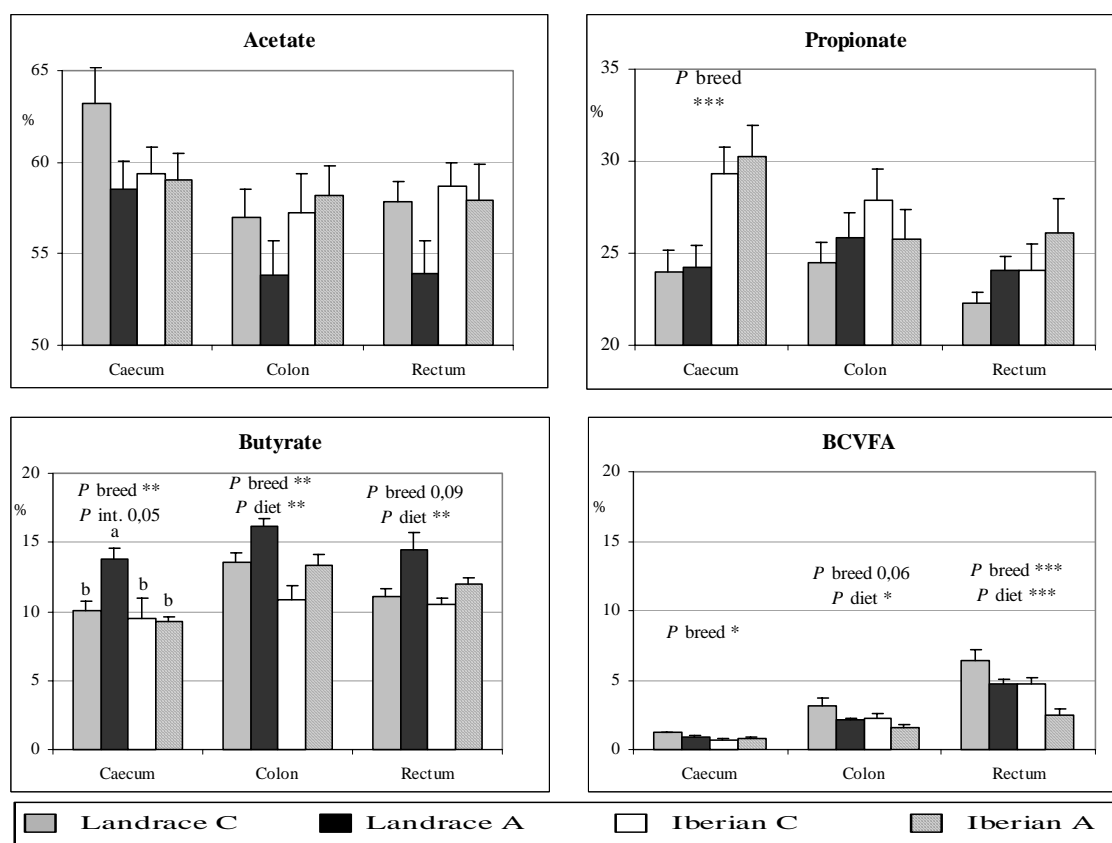
**Figure 3.1** - Effects of corn- (C) and corn-sorghum-acorn (A) based diets on the VFA and acetate concentration in hindgut digesta of finishing Landrace (Lr) and Iberian (Ib) pigs. For each digestive segment, lower bars show standard error of the means.



Individual VFA profiles (molar percentages; acetate, propionate, butyrate and branched-chain VFA including isobutyrate and isovalerate) are presented in Figure 3.2. Average acetate ranged between 53.8 and 63.2%, showing no clear pattern from caecal to rectal digesta. No significant differences were observed in the acetate percentage between breeds or diets. Propionate percentages ranged between 22.3 – 31.1%, showing in Iberian pigs the highest values in the proximal segments (caecum, 29.8% and proximal colon, 31.0%), while no clear pattern was observed for Landrace pigs. Average values

were also higher for Iberian than for Landrace in caecal and proximal colon digesta ( $P < 0.001$ ). Butyrate percentage ranged between 9.3 – 16.1% being significantly higher for Landrace than for Iberian pigs, and for Diet A than for Diet C. The highest values were observed in Landrace fed Diet A, which showed a significant interaction ( $P < 0.05$ ) in caecal digesta. Branched-chain VFA percentages ranged between 0.7 and 6.5%, and increased from caecum to rectum. Among experimental treatments, branched-chain VFAs were higher in Landrace than in Iberian ( $P < 0.05$  in caecum,  $P < 0.001$  in rectal digesta), and in Diet C than in Diet A ( $P < 0.05$  in medium colon,  $P < 0.001$  in rectal digesta), increasing the differences on passage of the digesta stream.

**Figure 3.2 - VFA proportions (molar basis) in the hindgut compartments of Landrace and Iberian pigs fed on corn- (C) and corn-sorghum-acorn (A) based diets.**



The lipid content in Gluteus medium differed between breeds, but not between diets. It was greater ( $P < 0.001$ ) in Iberian (7.39 and 5.88 %) than in Landrace (2.51 and 4.00 %) for diets C and A, respectively. Backfat thickness (Table 3.5) was also greater in Iberian than in Landrace pigs (57.9 vs. 29.0 mm;  $P < 0.001$ ), with no significant differences

associated with the diets. Malic enzyme (ME) activity showed significant differences between breeds, being higher for Iberian than for Landrace pigs in subcutaneous adipose tissue (10.0 vs. 5.9  $\mu\text{mol NADPH min}^{-1} \text{g}^{-1}\text{protein}$ ,  $P < 0.001$ ) and muscle (5.4 vs. 3.8  $\mu\text{mol NADPH min}^{-1} \text{g}^{-1}$  in Semimembranosus; 5.3 vs. 2.9 in Gluteus medium;  $P < 0.01$ ). No differences were observed between diets ( $P > 0.05$ ). Glucose 6P dehydrogenase (G6PDH) was higher in Iberian than in Landrace pigs in subcutaneous adipose tissue (4.3 vs. 2.9  $\mu\text{mol NADPH min}^{-1} \text{g}^{-1}\text{protein}$ ;  $P < 0.01$ ) and Gluteus medium (0.518 vs. 0.19  $\mu\text{mol NADPH min}^{-1} \text{g}^{-1}$ ;  $P < 0.01$ ), but not in intermuscular fat and Semimembranosus muscle. No significant differences were observed between the experimental diets, except in the intermuscular adipose tissues, which showed significantly higher ( $P < 0.05$ ) G6PDH activities in animals fed diet C compared to diet A.

**Table 3.5** - Effect of corn- (C) and corn-sorghum-acorn (A) based diets on the activity of malic enzyme (ME) and glucose-6-phosphate dehydrogenase (G6PDH) determined in the adipose tissue ( $\mu\text{mol NADPH min}^{-1} \text{g}^{-1}\text{protein}$ ) and muscle ( $\mu\text{mol NADPH min}^{-1} \text{g}^{-1}$ ), and on the backfat thickness

	LANDRACE		IBERIAN		<i>s.e.</i>	Statistical differences <sup>a</sup>		
	C	A	C	A		Breed	Diet	Inter. <sup>b</sup>
<i>ME</i>								
Adipose Tissue								
Subcutaneous	6.04	5.83	11.12	8.89	0.836	***	NS	NS
Intermuscular	2.45	2.37	5.44	2.40	0.887	0.10	0.09	0.11
Muscle								
<i>Semimembranosus</i>	4.13	3.36	5.26	5.58	0.560	**	NS	NS
<i>Gluteus Medium</i>	2.69	3.18	5.06	5.64	0.562	**	NS	NS
<i>G6PDH</i>								
Adipose Tissue								
Subcutaneous	2.90	2.90	4.42	4.18	0.302	***	NS	NS
Intermuscular	1.47	1.36	2.41	1.27	0.292	NS	*	0.09
<i>Semimembranosus</i>	0.24	0.17	0.29	0.29	0.108	NS	NS	NS
<i>Gluteus Medium</i>	0.20	0.18	0.42	0.61	0.092	**	NS	NS
Backfat thickness (mm)	26.3	31.7	58.3	57.5	0.69	***	NS	NS

<sup>a</sup>n=6

\*,  $P < 0.05$ ; \*\*,  $P < 0.01$ ; \*\*\*,  $P < 0.001$ .

<sup>b</sup>Inter., P breed x diet interaction.

### 3.4. DISCUSSION

#### 3.4.1. Comparisons between Iberian and Landrace pigs

Voluntary feed intake and feed:gain ratios were significantly higher in Iberian than in Landrace pigs. These results partially reflect the lower whole-tract digestibility of Iberian pigs (Table 3.4) and mostly the higher energy content of their weight gains. Although inter-specific differences in digestive enzyme secretions should not be ruled out (Freire et al., 1998b), differences in digestibility in the present experiment appear simultaneously with changes in the environmental digestive parameters, such as digesta bulk and mean retention time of digesta in the digestive tract. In particular, the higher voluntary intake of Iberian pigs was associated with significant digestive tract adaptations, as it is an increased stomach content, a lower digesta content in the hindgut compartment and a shorter time of retention of digesta for fermentation.

Differences in the feed conversion ratios between Iberian and Landrace pigs should be mainly explained by differences in the energy content of the weight gains. Iberian pigs showed higher daily energy depots in the backfat, intramuscular lipid content, and lipogenic enzymes activity (ME and G6PDH). The Iberian pig has greater lipid synthesis activity than Landrace. Similar results have been observed by Freire et al. (1998a), who evidenced a higher lipogenic activity in Iberian than in Large White postweaning pigs. Differences were observed in both G6PDH and ME. However, the activity of G6PDH in the muscle was much lower (20 to 40 times) than that of the ME, indicating that NADPH production in the muscle was mainly by ME (Mourot and Kouba, 1999). The global production of this co-factor was higher in the Iberian breed, which reflected an increase in lipid synthesis, and therefore lipid storage, in muscle.

Mears and Mendel (1974) demonstrated a correlation between feed intake and adipocyte number. Fat accretion is a consequence of the daily energy consumption, but other evidences indicate that adipose tissue may regulate the energy intake. In particular, the lipostatic theory of energy balance regulation proposed 40 years ago that circulating factors, generated in proportion to body fat stores, acted as signals to elicit changes in energy intake and expenditure. The discovery of leptin and its receptors has now provided a molecular basis for this theory (Friedman, 1997). Differences between Iberian and Landrace pigs in the voluntary intake and fat accretion could reveal intrinsic differences in their intermediary regulatory metabolism, such as leptin secretion or tissue resistance. Recent reports on genetic mapping of quantitative trait loci (QTL) for growth

and fatness in pigs implicate individual QTL or several linked QTL in the control of backfat thickness and intramuscular fat percentage (Ovilo et al., 2000), and in fatty acid composition (Pérez-Enciso et al., 2000). A gene controlling intermediary metabolism could increase the activity of enzymes involved in the storage of energy in general, particularly lipogenic enzymes.

#### *3.4.2. Comparison between corn and sorghum-acorn based diets*

Experimental diets contained a high amount of starch (561 g/kg DM in Diet C and 514 in Diet A) and a moderate content of dietary fibre carbohydrates (129 g/kg DM in Diet C and 125 in Diet A). Starch digestion is mainly effected by  $\alpha$ -amylases in the small intestine. However, a certain amount of starch (namely resistant starch) resists to small intestinal digestion and enters the large bowel. In the present experiment, although no differences were observed between diets in the amount of resistant starch in vitro, significant differences were observed in the whole tract digestibility of starch (Table 3.4). It is known that the digestion of starch is dependent on the starch structure and interactions with other dietary components (Rooney and Pflugfelder, 1986), but also on the potential presence of antinutritional factors (Lizardo et al., 1995) such as the tannins. In the present experiment, a higher presence of tannins was found in Diet A (0.88% quercitannic acid) than in Diet C (0.39%), mainly contained in the decorticated acorns (4.34%). It could be suggested that differences in the tannin content could have influenced the lower whole-tract digestibility observed with Diet A. However, despite this main dietary effect, a significant interaction (diet x animal breed) was observed, which evidenced a higher decrease of the whole-tract digestibility of starch and dietary fibre of Diet A in Iberian than in Landrace pigs. Although differences in foregut digestion should not be ignored, it appears that differences in the whole-tract digestion mainly reflect changes in hindgut fermentation.

Differences were also observed between breeds in the hindgut VFAs concentration and individual VFAs molar percentages. Iberian pigs showed higher propionate and lower butyrate percentages than Landrace pigs with both diets. These differences could suggest main differences in either, the composition of the indigestible substrate entering the caecum-colon, or the microbial populations involved. In particular, a differential hindgut microbial colonization could have been promoted by the shorter residence times of digesta in the caecum and colon of Iberian pigs, which could wash out slow rate proliferating bacteria (Varel et al., 1988). An interesting different pattern of fermentation

was observed between Iberian and Landrace fed Diet A, but not Diet C. Landrace were able to ferment most substrate reaching the caecum and proximal colon, while Iberian showed a higher fermentation distally, likely due to shorter digestion time. This hypothesis could be reinforced by the branched-chain VFAs (BCVFAs) profile, which is known to increase as carbohydrate run out along the large bowel (Reid and Hillman, 1999). Thus, BCVFAs increased from caecum to rectum, and enhanced differences among the experimental treatments as being higher ( $P < 0.01$ ) for Diet C than for Diet A, and for Landrace than for Iberian.

Present digestibility results evidence a wide range of differences in the amount and nutrients (glucose and VFA) absorbed from dietary carbohydrates. We hypothesise that nutrients absorbed from carbohydrates could affect lipogenesis in muscle or adipose tissue. In fact, regulation of specific genes by nutrients is considered as an important mechanism in the adaptation of mammals to their nutritional environment (Friedman, 1997), especially of those enzymes involved in the storage of energy, such as glycolysis and lipogenic enzymes (Girard et al., 1997). Lipogenic enzymes are stimulated by glucose (Towle et al., 1997) and other compounds including fructose, lactate, glycerol and dihydroxyacetone (Mariash and Oppenheimer, 1983). However, in the present experiment, no significant differences were observed between diets in the lipogenic enzyme activity, except a significant decrease in the G6PDH activity in adipose tissue of Iberian pigs fed Diet A.

### **3.5. CONCLUSION**

Present results evidence a widespread difference range between Iberian and Landrace pigs in their voluntary intake and endogenous lipogenesis. These differences were associated with significant variations in the whole-tract digestibilities of different dietary carbohydrate sources. Between experimental diets, although no great differences were imposed by their carbohydrate composition, an effect on the digestive response (whole-tract digestibility and fermentation pattern) is observed. However, lipogenic enzymes activities were markedly influenced by the animal breed and to a lesser extent by the diet. These results should reinforce the interest of further studying the strategies used by different genotypes to digest carbohydrates and degrade fibre, the intermediary metabolism of their energy transactions, and the likely effects of the nutrients absorbed on the protein and fat accretion in different tissue locations.

### 3.6. REFERENCES

- Allee, G.L., Romsos, D.R., Leveille, G.A., Baker, D.H. (1971). Influence of age on *in vitro* lipid biosynthesis and enzymatic activity in pig adipose tissue. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 137: 449-452.
- AOAC (1990) Official Methods of Analysis. 15th ed. Association of Official Analytical Chemists, Arlington, VA.
- Benito, J. (1996) Las bases de la explotación intensiva. El cerdo ibérico. In: Buxadé, C. (Ed.) Zootecnia. Bases de Producción Animal VI. Mundiprensa, Madrid, pp. 315-331.
- Berry, C.S. (1986) Resistant starch: formation and measurement of starch that survives exhaustive digestion with amylolytic enzymes during the determination of dietary fibre. *J. Cereal Sci.*, 4: 301-314.
- Champ, M. (1992) Determination of resistant starch in foods and food products: interlaboratory study. *Eur. J. Clin. Nutr.*, 46, Suppl. 1: s51-s61.
- Fitch, W.M., Hill, R., Chaikoff, I.L. (1959) The effect of fructose feeding on glycolytic enzyme activities of the normal rat liver. *J. Biol. Chem.*, 234: 1048-1051.
- Fontanillas, R., Barroeta, A.C., Baucells, M.D., Codony, R. (1997) Effect of feeding highly cis-monounsaturated, trans, or n-3 fats on lipid composition of muscle and adipose tissue of pigs. *J. Agr. Food Chem.*, 45: 3070-3075.
- Freire, J.P., Mourot, J., Cunha, L.F., Almeida, J.A., Aumaitre, A. (1998a) Effect of the source of dietary fat on post-weaning lipogenesis in lean and fat genotypes of pigs. *Ann. Nutr. Metab.*, 42: 90-95.
- Freire, J.P., Peiniau, J., Cunha, L.F., Almeida, J.A., Aumaitre, A. (1998b) Comparative effects of dietary fat and fibre in Alentejano and Large White piglets: digestibility, digestive enzymes and metabolic data. *Livest. Prod. Sci.*, 53: 37-47.
- Friedman, J.M. (1997) The alphabet of weight control. *Nature*, 385: 119-120.
- Gandemer, G., Pascal, G., Durand, G. (1983) Lipogenic capacity and relative contribution of the different tissues and organs to lipid synthesis in male rat. *Reprod. Nutr. Dev.*, 23: 575-588.
- Girard, J., Ferre, P., Foufelle, F. (1997) Mechanisms by which carbohydrates regulate expression of genes for glycolytic and lipogenic enzymes. *Annu. Rev. Nutr.*, 17: 325-352.
- Goodlad, J.S., Mathers, J.C. (1987) Digesta flow from the ileum and transit time through the caecum of rats given diets containing graded levels of peas. *Proc. Nutr. Soc.*, 46: 149A.
- Hsu, R.Y., Lardy, H.A. (1969) Malic enzyme. In: Lowenstein, J.M. (Ed.) *Methods in Enzymology*. No. 17. Academic Press, New York, pp. 230-235.
- Jouany, J.P. (1982) Volatile fatty acid and alcohol determination in digestive contents, silage juices, bacterial cultures and anaerobic fermentor contents. *Sci. Aliments*, 2: 131-144.

Karlsson, A., Enfält, A.-C., Essén-Gustavsson, B., Lundström, K., Rydhmer, L., Stern, S. (1993) Muscle histochemical and biochemical properties in relation to meat quality during selection for increased lean tissue growth rate in pigs. *J. Anim. Sci.*, 71: 930-938.

Lizardo, R., Peiniau, J., Aumaitre, A. (1995) Effect of sorghum on performance, digestibility of dietary components and activities of pancreatic and intestinal enzymes in the weaned piglet. *Anim. Feed Sci. Tech.*, 56: 67-82.

López-Bote, C.J. (1998) Sustained utilization of the Iberian pig breed. *Meat Sci.*, 49: S17-S27.

López-Bote, C.J., Isabel, B. y Rey, A.I. (1998) Alimentación del cerdo ibérico y calidad de la producción cárnica. *Anaporc*, 177: 50-73.

Mariash, C.N., Oppenheimer, J.H. (1983) Stimulation of malic enzyme formation in hepatocyte culture by metabolites: evidence favoring a nonglycolytic metabolite as the proximate induction signal. *Metabolism*, 33: 542-552.

Mears, G.J., Mendel, V.E. (1974) Correlation of food intake in lambs with adipocyte glucose metabolism and NEFA release. *J. Physiol.*, 240: 625-637.

Mourot, J., Kouba, M. (1999) Development of intramuscular adipose tissue and effects on meat quality in growing Large White and Meishan pigs. *Reprod. Nutr. Dev.*, 39: 125-132.

O'Sullivan, M.G., Kerry, J.P., Buckley, D.J., Lynch, P.B., Morrissey, P.A. (1997) The distribution of dietary vitamin E in the muscles of the porcine carcass. *Meat Sci.*, 45: 297-305.

Ovilo, C., Pérez-Enciso, M., Barragán, C., Clop, A., Rodríguez, C., Oliver, M.A., Toro, M.A., Noguera J.L. (2000) A QTL for intramuscular fat and backfat thickness is located on porcine chromosome 6. *Mammalian Genome*, 11: 344-346.

Pérez-Enciso, M., Clop, A., Noguera, J.L., Ovilo, C., Coll, J.M., Folch, J.M., Babot, D., Estany, J., Oliver, M.A., Díaz, I., Sánchez, A. (2000) The porcine FAT1 locus affects fatty acid metabolism: Evidence from an iberian by landrace intercross. *J. Anim. Sci.*, 78: 2525-2531.

Pond, W.G., Jung, H.G., Varel V.H. (1988) Effect of dietary fiber on young adult genetically lean, obese and contemporary pigs: body weight, carcass measurements, organ weights and digesta content. *J. Anim. Sci.*, 66: 699-706.

Reid, C.A., Hillman, K. (1999) The effects of retrogradation and amylose/amylopectin ratio of starches on carbohydrate fermentation and microbial populations in the porcine colon. *Anim. Sci.*, 68: 503-510.

Rooney, L.W., Pflugfelder, R.L. (1986) Factors affecting starch digestibility with special emphasis on sorghum and corn. *J. Anim. Sci.*, 63: 1607-1623.

SAS Institute (1996) SAS®. SAS Inst. Inc., Cary, NC.

Serra, X., Gil F., Pérez-Enciso, M., Oliver, M.A., Vázquez, J.M., Gispert, M., Díaz, I., Moreno, F., Latorre, R., Noguera, J.L. (1998) A comparison of carcass, meat quality and histochemical characteristics of iberian (Guadyerbas line) and landrace pigs. *Livest. Prod. Sci.*, 56: 215-223.



Theander, O. (1991) Chemical analysis of lignocellulosic material. *Anim. Feed Sci. Tech.*, 32: 35-44.

Towle, H.C., Kaytor, E.N., Shih H.M. (1997) Regulation of the expression of lipogenic enzyme genes by carbohydrate. *Annu. Rev. Nutr.*, 17: 405-433.

Varel, V.H., Jung, H.G., Pond, W.G. (1988) Effect of dietary fiber on young adult genetically lean, obese and contemporary pigs: rate of passage, digestibility and microbiological data. *J. Anim. Sci.*, 66: 707-712.

Williams, C.H., David, D.J., Lismaa, O. (1962) The determination of chromic oxide in faeces samples by atomic absorption spectrophotometry. *J. Agr. Sci.*, 59: 381-385.

Yen, J.T., Nienaber, J.A., Hill, D.A., Pond, W.G. (1991) Potential contribution of absorbed volatile fatty acids to whole-animal energy requirement in conscious swine. *J. Anim. Sci.*, 69: 2001-2012.

## CAPÍTULO 4

Fermentación en el tracto digestivo posterior de dos dietas de maíz o de sorgo-bellota administradas como diferentes fuentes de carbohidratos a cerdos Landrace e Ibéricos.

MORALES, J.; PÉREZ, J. F.; MARTÍN-ORÚE, S.M.; FONDEVILA, M. y GASA, J.  
2002.

**Large bowel fermentation of corn or sorghum-acorn diets fed as a different source of carbohydrates to Landrace and Iberian pigs**

British Journal of Nutrition. 2002. *En prensa.*

---

**ABSTRACT**

Twenty-four finishing pigs (12 Iberian and 12 Landrace) were used in a growing and slaughtering experiment. Animals were fed two diets differing in their ingredients, corn (diet C) or sorghum-acorn (diet A). At an average weight of 107.0 kg pigs were slaughtered and hindgut digesta sampled to study the effect of breed and diet on the large bowel fermentation. Flows of digesta to the hindgut compartment were estimated based on an indigestible flow marker ( $\text{Cr}_2\text{O}_3$ ) and were higher in Iberian than in Landrace pigs ( $P < 0.001$ ), and in animals fed diet A than diet C ( $P = 0.07$ ). The higher flows in Iberian pigs were mainly associated with a higher voluntary feed intake (3.50 vs. 2.70 kg/d,  $P < 0.01$ ) and lower ileal digestibility of non-starch polysaccharides (NSP) (-12.8 vs. 47.8,  $P < 0.01$ ). Differences between diets were mainly associated with a lower ileal digestibility of starch from diet A (89.2 vs. 96.9%,  $P = 0.06$ ), although no differences in the resistant starch content were observed *in vitro*. Fermentation of different carbohydrates through the large bowel showed that NSP-glucose had lower digestibility in Iberian than in Landrace pigs (62.5 vs. 94.2%,  $P < 0.001$ ), but no differences were observed in starch, or other NSP-fibre fractions (arabinose, xylose and galactose). The type and amount of carbohydrates reaching the large bowel were related with the diet but also with breeds, and promoted differences in the fermentative activity associated with different volatile fatty acid (VFA) patterns and changes in microbial enzymatic activity.

#### 4.1. Introduction

The components of the diet that are poorly digested in the small intestine of swine, provide a substrate for microbial growth that allows the animal to utilise part of the energy of these substrates as their fermentation products. The amount of energy so absorbed in the large bowel of pigs is not negligible and may contribute to cover up to 25% of the maintenance energy requirements (Yen *et al.* 1991). However, energy derived from fermentation end-products is utilised with lower efficiency than energy absorbed in the small intestine (Noblet *et al.*, 1994), and may determine to some extent the energy values of digestible components. Among energy sources, carbohydrates are the most abundant form of energy in plant materials and, as such, are the most widely available source of energy for feeding monogastric animals. Carbohydrates, which include low molecular weight sugars, starch and non starch polysaccharides (NSP), provide an heterogeneous substrate (Bach Knudsen, 1997). In most mixed diets, starch constitutes the main source of carbohydrates in the small intestine while NSP, commonly referred to as dietary fibre, are mostly known to escape digestion in small intestine and are fermented to different extents by the caecal and colonic bacteria (Jensen, 2001).

However, some starchy foods may also increase hindgut fermentation (Anderson *et al.* 1981). In this regard, Englyst *et al.* (1982) identified a starch fraction in cornflakes, which was resistant to  $\alpha$ -amylase (EC 3.2.1.1.), now termed resistant starch (RS). In contrast to structural resistance of NSP to mammalian enzymes, resistance of starch occurs for a number of chemical, technological and physiological reasons (Gallant *et al.* 1992; Annison & Topping, 1994). Resistant starch occurs for a number of reasons, which have been used for RS classification into three main types (Englyst *et al.* 1992): RS1 includes that trapped within whole plant cells and food matrices; RS2 comprises those granules from certain plants that are gelatinised poorly and hydrolysed slowly by  $\alpha$ -amylases; RS3 comprises retrograded starches. Thus, foregut starch digestion has been shown to be conditioned by physiological variables including chewing and individual variation in transit (Champ, 1992; Englyst *et al.* 1992). In this context, the swine digestive system may have an influence on the nutritive value of each energy source and especially the starch fraction.

The present study aims to evaluate the effect of breed on the fractional digestion of carbohydrates in the foregut and hindgut compartments. Two genetically distinct strains of pigs: Landrace, a breed improved for lean growth rate, and the indigenous Iberian

pigs, traditionally fattened in field conditions, have been previously shown to differ in their ability to digest carbohydrate (Morales *et al.* 2001) and offer an opportunity to study animal factors conditioning digestion of starch and NSP in the large intestine. In order to promote variation of carbohydrates characteristics, animals were fed *ad libitum* two diets differing in their carbohydrate ingredients (corn vs. sorghum and acorn). We studied the microbial fermentation by measuring different parameters of the microbial activity, such as the purine bases (PB) content and the enzymatic carbohydrase activity, and the simultaneous carbohydrate disappearance and distribution of volatile fatty acids (VFA) and pH along the large intestine.

A preliminary account of part of the present study has been published (Morales *et al.* 2001; Pérez *et al.* 2001).

## 4.2 Experimental Methods

The experiment was performed at the Experimental Unit of the Universitat Autònoma de Barcelona and received prior approval from the Animal Protocol Review of this Institution.

### Animals and diets

Twenty-four castrated male finishing pigs (12 Landrace, 12 Iberian; mean body weight  $88.4 \pm 6.4$  kg) were housed in 8 pens (3 animal/ each) in an environmentally controlled building. Replicates were randomly divided into two groups offered *ad libitum* a corn- (Diet C) or a sorghum-acorn (Diet A) based diet in a 2 x 2 factorial and randomised complete block design. Ingredient and analyzed nutrient contents of diets are presented in Table 4.1. Diet A was composed of sorghum (275 g/kg) and decorticated acorns (125 g/kg), the fruit of the *Quercus* genus, which replaced partially the corn content of diet C (754 g/kg). Despite the differences in the ingredients, both diets contained similar amounts of NSP, starch and resistant starch, as measured *in vitro*.

We reduced the shell proportion of ground acorns (up to 12%) by rough grinding. Diets were equalised for shell and fatty acids content by incorporating isolated shells and olive oil in the corn-based diets. Chromium III oxide (Cr<sub>2</sub>O<sub>3</sub>) was included (1.5 g/kg) as an indigestible marker.

**Table 4.1** - Composition and analyzed nutrient content of the experimental diets.

	Diet C	Diet A
Ingredients (g/kg)		
Corn	754	376
Sorghum	-	275
Semidecorticated Acorn	-	125
Soybean meal	197	195
Acorn shell	15	-
Soybean oil	-	7
Olive oil	12	-
Premix*	22	22
Nutrient analysis (g/kg DM)		
Crude protein	161.9	171.9
Crude fat	52.4	53.3
NSP		
Glucose	65.2	65.5
Galactose	13.0	13.4
Xylose	19.4	16.6
Arabinose	16.6	15.3
Starch	561.0	513.4
Resistant Starch	107.0	106.0
Lignin	14.4	18.2
Gross energy (kcal/kg)	3973	3938

\*Premix provided the following per kg of diet: CaCO<sub>3</sub> 7.1 g, CaHPO<sub>4</sub> 7.9 g, NaCl 2.3 g, vitamin A, 7,000 IU; vitamin D<sub>3</sub>, 1,800 IU; vitamin E, 10 mg; vitamin K<sub>3</sub>, 1 mg; vitamin B<sub>1</sub>, 1 mg; vitamin B<sub>2</sub>, 4 mg; vitamin B<sub>6</sub>, 2 mg; vitamin B<sub>12</sub>, 20 µg; biotin, 10 µg; niacin, 18 mg; Ca-d-pantothenic acid, 10 mg; choline, 175 mg. Minerals: Fe, 80 mg; Zn, 110 mg; Cu, 90 mg; Mn, 50 mg; Co, 0.1 mg; I, 1 mg; Se, 0.2 mg.

150 mg of Ethoxiquin® and 500 mg of Luctamold® per kg of feed were added to both diets.

### Experimental protocol

Pen feed intake and individual body weight were recorded every two weeks. Pigs were slaughtered at an average weight of 107.0 kg without previous fastening in a commercial slaughterhouse after CO<sub>2</sub> stunning. The whole gut was immediately excised and caecum, colon (proximal, medium and distal) and rectum ligated, removed and weighed. The intestinal contents were collected and homogenized quickly and samples preserved (20 min average after slaughtering). Ileal digesta was sampled from a 300 mm length segment approximately 100 mm anterior to the ileal-caecal junction. Caecal digesta samples were frozen in liquid N<sub>2</sub> and stored at -70°C until their analysis for microbial enzymatic activities. Caecal, colonic and rectal digesta samples were also acidified with H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> (approximately 4 g fresh weight /ml of 5% (w/w) H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>, 1% (w/w) of mercuric chloride and 50mM 3 methyl valerate as internal standard) and stored at -20°C until

their analysis for VFA concentration. The rest of the ileal, caecal, medium colonic and rectal digesta were freeze-dried and milled for their analysis for Cr, carbohydrates and purine bases.

#### Analytical procedures

Chemical analyses of the diets and digesta were conducted according to the Association of Official Analytical Chemists (1984) for DM, ash, CP and fat, and Goering and Van Soest (1970) for lignin. Gross energy was determined by adiabatic calorimetry. Total starch and NSP fractions of feed and digesta samples were measured by the method of Theander (1991). Briefly, total starch was determined as glucose liberated after an enzymatic incubation with thermostable  $\alpha$ -amylase (Sigma ref. A-4551) for 1 h at 100°C, and amyloglucosidase (Sigma ref. A-3514) for 4 h at 60°C. Non-starch polysaccharides were precipitated with 80% ethanol (1h at 4°C), and hydrolysed with sulphuric acid, using myoinositol as internal standard. Resistant starch was measured by the method of Berry (1986) modified by Champ (1992) as the part of starch not hydrolysed by incubation with  $\alpha$ -amylase for 16 h at 37°C. Hydrolysis products were extracted in 80% ethanol and discarded. Resistant starch was then solubilized with 4M KOH and hydrolysed with amyloglucosidase for 90 min at 65°C. Monosaccharides released from total and resistant starch, and NSP were analysed as alditol acetates by gas-liquid chromatography. Chromium III oxide concentration in feed and digesta was determined by Atomic Absorption Spectrophotometry following the method of Williams *et al.* (1962).

Purine bases (Adenine-Ad, and guanine-Gn) in digesta samples (40 mg) were determined by HPLC (Makkar & Becker, 1999), after their acid hydrolysis with 2 ml 2 M-perchloric acid (PCA) at 100°C for 1h, including 0.5 ml of 1 mM-allopurinol as internal standard. The microbial enzymes were extracted from the caecal contents by hydrolysis with lysozyme (Silva *et al.* 1987), harvested from the supernatant after centrifugation at 23,000 x g for 15 min, and kept frozen (-20°C) until their analysis, in less than a month. Polysaccharidase activity of the enzyme extract was measured according to the method of Nelson-Somogyi (Ashwell, 1957) against carboxymethylcellulose (Sigma ref. C-8758; CMCase activity), xylan from oat spelts (Sigma ref. X-0627; xylanase activity), soluble starch from potato (PANREAC 121096; amylase activity) and waxy starch from corn (Sigma ref. S-9679; amylopectinase activity). The activity of the enzymatic extract was expressed as nmoles of neutral sugars released per ml of extract per min and referred either to the dry weight of digesta (total enzymatic activity) or the purine bases content

(bacterial enzymatic activity). VFA concentration in deproteinized digesta was determined by GLC, following the method proposed by Jouany (1982).

#### Calculations and statistical analysis

Apparent digestibility along the intestine (ileum, caecum, intermedium colon and rectum) and daily flow of neutral sugars and purine bases in gastrointestinal segments were calculated by the marker (Cr) ratio method. In particular, the daily flow of a nutrient (N) through the ileum, caecum or colon was calculated as the ratio between concentrations of N and Cr in digesta, multiplied by Cr intake per day. Caecal and colonic transit time (TT) were calculated as the mass of Cr present in the organ divided by Cr intake (Goodlad & Mathers, 1987). Data were subjected to analysis of variance, and a Tukey follow up test was used for comparisons of means using the General Linear Model available in Statistical Analysis Systems statistical software package version 6.11 (SAS Institute, Cary, NC, USA) for a factorial arrangement of treatments. A two-tailed *P* value of < 0.05 was considered significant

### **4.3 Results**

#### Food intake and carbohydrates flow to the large bowel

Mean voluntary intake of Iberian pigs was significantly higher ( $P = 0.004$ ) than that of Landrace (3,497 vs. 2,699 g DM/d; Table 4.2), but no differences were observed between experimental diets. Iberian pigs also showed higher flows of carbohydrates to the large intestine, with a tendency for glucose (122.1 vs. 63.2 g/d;  $P = 0.10$ ), and significantly for galactose (54.0 vs. 26.5 g/d;  $P = 0.003$ ) and arabinose + xylose (198.2 vs. 81.6 g/d;  $P = 0.001$ ) contained in the NSP, although not significantly for starch (139.9 vs. 90.4 g/d;  $P = 0.45$ ). Between diets, diet A tended to promote a higher amount of starch entering the large intestine than diet C (174.3 vs. 56.0 g/d;  $P = 0.08$ ).

Hindgut digesta contents (i.e. caecum + colon) were significantly higher ( $P < 0.01$ ) in Landrace (2,139 and 2,794 g) than in Iberian pigs (1,655 and 1,482 g) fed diet C and diet A, respectively (Pérez *et al.* 2001). No significant differences were observed between diets. Transit time in the large bowel was significantly higher in Landrace than Iberian pigs ( $P < 0.001$ ) and with diet C than diet A ( $P = 0.018$ ), averaging 23.2 and 18.5 h in Landrace and 12.1 and 5.4 h in Iberian pigs fed diet C and A, respectively.



**Table 4.2** - Voluntary intake (g/d), daily flow to the hindgut (g) of starch, and NSP fractions (glucose, Glu; arabinose+xylose, Ara+Xyl; and galactose, Gal), digesta content (g), and transit time (h) in caecum and colon of Landrace and Iberian finishing pigs fed a corn (C) or a sorghum-acorn (A) based diet.

	LANDRACE		IBERIAN		<i>s.e.</i>	Probability <sup>†</sup>		
	C	A	C	A		Breed	Diet	<sup>‡</sup> Inter.
Feed Intake	2,626	2,771	3,461	3,532	199.0	**	N.S.	N.S.
Daily flows to the hindgut								
Starch	31.3	149.5	80.7	199.1	66.71	N.S.	0.08	N.S.
NSP								
Glu	45.8	80.7	97.1	147.2	35.49	0.10	N.S.	N.S.
Ara + Xyl	73.1	90.2	209.8	186.5	25.57	***	N.S.	N.S.
Gal	24.4	28.6	45.5	62.5	8.30	**	N.S.	N.S.
Digesta content								
Caecum	257	412	213	231	61.7	*	N.S.	N.S.
Colon	1882	2382	1442	1251	220.7	**	N.S.	N.S.
Transit time								
Caecum	1.29	1.59	0.81	0.66	0.260	*	N.S.	N.S.
Colon	21.89	16.87	11.24	4.76	1.678	***	**	N.S.

<sup>†</sup>Probability; N.S.  $P > 0.10$ ; \* $P < 0.05$ , \*\* $P < 0.01$ , \*\*\* $P < 0.001$

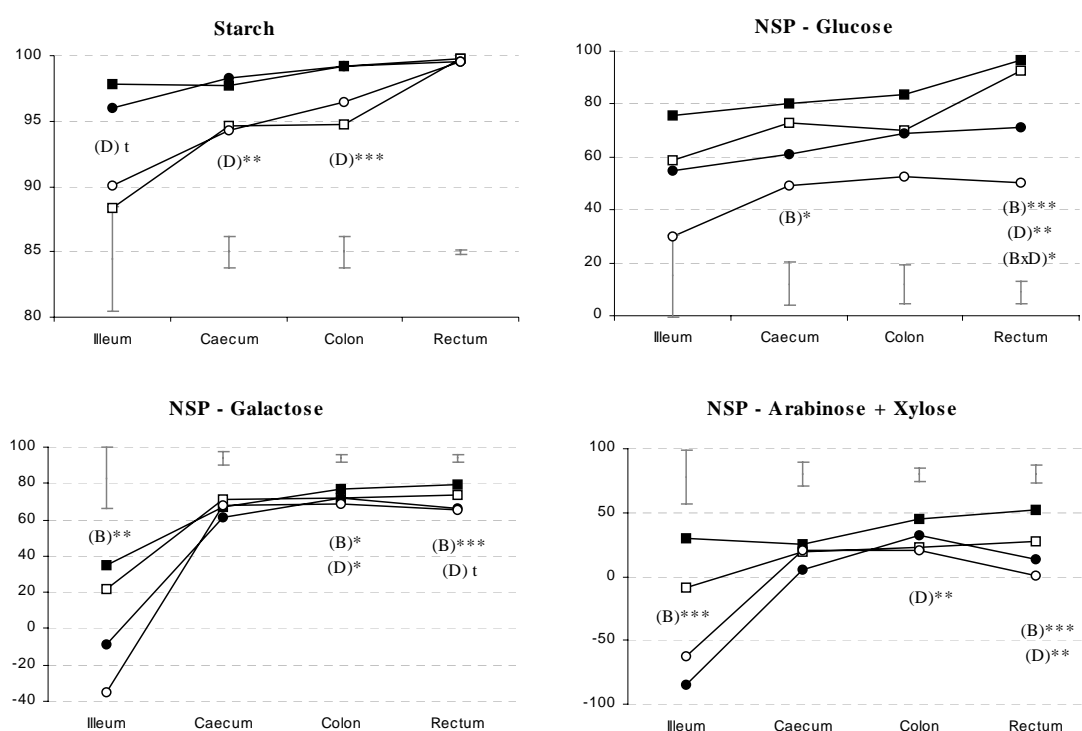
<sup>‡</sup>Interaction of breed x diet

### Neutral sugars fermentation

Figure 4.1 shows the fractional digestibility (%) through the large bowel compartment of starch and the main NSP constituents: glucose, galactose and xylose + arabinose. Significant differences were observed in the fractional digestibility of individual carbohydrates as affected by the breed or diet. Specifically, starch of diet A was less digested in the small intestine than that of diet C (89.2 vs. 96.9%,  $P = 0.06$ ); no differences were observed between breeds. Differences between diets were progressively reduced along the large intestine compartment, and reached a complete digestion by the rectum with both diets. The small intestine digestibility of NSP-glucose was not significantly different between treatments. Average values were 67% in Landrace and 42% in Iberian pigs; between diets, were 65% and 44% in animals fed diet C and A, respectively. Large intestine fermentation increased its digestion, but significant differences between Landrace and Iberian were still evident in the whole tract digestibility of NSP-glucose (94.66 vs. 60.76%,  $P < 0.001$ ). Fractional digestibility in the ileum of NSP galactose and arabinose + xylose was significantly higher in Landrace than Iberian pigs, which unexpectedly presented negative values. Large intestine fermentation in the caecum compensated most differences. However, whole-tract

digestibility of arabinose + xylose was still higher ( $P < 0.001$ ) in Landrace (39.77) than Iberian (7.09) pigs.

**Figure 4.1** - Fractional digestibility of starchy glucose, and Non-starch polysaccharides (NSP) glucose, galactose and arabinose + xylose in ileal, caecal, middle colonic and rectal digesta of finishing pigs fed a corn (Landrace ■; Iberian ●) or a sorghum-acorn (Landrace □; Iberian ○) based diet. Standard errors are represented by vertical bars, and significant differences between breeds (B), diets (D) and interaction breed x diet (B x D) by t ( $P < 0.10$ ), \* ( $P < 0.05$ ), \*\* ( $P < 0.01$ ) and \*\*\* ( $P < 0.001$ ).



Purine bases and carbohydrase activities in large bowel digesta

Purine bases (PB) concentration in digesta is presented in Table 4.3. Compared with the middle colonic digesta, caecal digesta contained higher concentrations of PB (30-41 vs. 7-11  $\mu\text{mol/g DM}$ ) and Gn:Ad ratios (1.4-1.5 vs. 1.1-1.2). Significant differences in PB concentration were observed between breeds, being higher in caecum in Landrace than Iberian (38.7 vs. 32.1  $\mu\text{mol/g DM}$ ,  $P = 0.047$ ), and higher in middle colon in Iberian than Landrace pigs (10.6 vs. 8.1  $\mu\text{mol/g DM}$ ,  $P = 0.017$ ). Differences in colonic digesta were

significantly increased when PB were expressed on a daily flow basis, being higher in Iberian than Landrace (7.8 vs. 5.2  $\mu\text{mol/d}$ ,  $P = 0.001$ ) and in diet A than diet C (8.4 vs. 4.6  $\mu\text{mol/d}$ ,  $P = 0.016$ ). Ratios of Gn:Ad in the middle colon digesta were also significantly higher for Iberian than for Landrace pigs (1.18 vs. 1.11,  $P = 0.05$ ).

**Table 4.3** - Concentration ( $\mu\text{mol / g DM}$ ) and daily flow ( $\mu\text{mol / d}$ ) of purine bases (PB), and Guanine:Adenine (Gn:Ad) ratio in caecal and middle colonic digesta of Landrace and Iberian pigs fed a corn (Diet C) or a sorghum-acorn (Diet A) based diet.

	LANDRACE		IBERIAN		s.e.	†Probability		
	Diet C	Diet A	Diet C	Diet A		Breed	Diet	‡Interac.
PB / g DM								
Caecum	40.7	36.7	33.8	30.3	3.35	*	N.S.	N.S.
Colon	7.5	8.6	10.5	10.7	1.13	*	N.S.	N.S.
Daily flow PB								
Caecum	26.7	32.6	29.1	30.5	3.38	N.S.	N.S.	N.S.
Colon	3.21	7.22	5.99	9.64	1.10	**	*	N.S.
Gn:Ad ratio								
Caecum	1.44	1.46	1.49	1.47	0.040	N.S.	N.S.	N.S.
Colon	1.10	1.12	1.18	1.18	0.039	*	N.S.	N.S.

†Probability; N.S.  $P > 0.10$ ; \* $P < 0.05$ , \*\* $P < 0.01$

‡Interaction of breed x diet

Mean values of total enzymatic activities (nmol/g DM and min; Table 4.4) averaged 300 for CMCCase, 838 for xylanase, 717 for amylase and 439 for amylopectinase. Iberian pigs showed higher values than Landrace pigs for CMCCase, xylanase and amylopectinase ( $P < 0.05$ ). There was no dietary effect, except for a higher amylopectinase activity in Iberian pigs given diet A (Interaction breed x diet,  $P = 0.045$ ). Bacterial enzymatic activities, as expressed on a PB ratio, better describes the specific activity of caecal microflora against carbohydrates. Significant differences were observed between breeds, showing the bacterial population in Iberian pigs to have a higher enzymatic activity than in Landrace pigs. A higher amylopectinase activity was also observed ( $P < 0.05$ ) for the microbial population of animals fed diet A.

**Table 4.4** - Enzymatic activities (nmol glucose or xylose released per ml and min per g DM (Total activity) or per  $\mu\text{mol PB}$  and min (Bacterial activity) of the caecal contents against carboxymethyl-cellulose( CMC), xylan, amylose and amylopectin of Landrace and Iberian pigs fed on a corn (C) or a sorghum-acorn (A) based diet.

	LANDRACE		IBERIAN		s.e.	†Probability		
	Diet C	Diet A	Diet C	Diet A		Breed	Diet	‡Interac.
<i>Total activity</i>								
CMCase	290	170	395	344	64.4	*	N.S.	N.S.
Xylanase	703	588	895	1164	154.8	*	N.S.	N.S.
Amylase	635	583	741	909	137.3	N.S.	N.S.	N.S.
Amylopectinase	193 <sup>b</sup>	247 <sup>b</sup>	265 <sup>b</sup>	1052 <sup>a</sup>	197.0	*	*	*
<i>Bacterial activity</i>								
CMCase	6.9	5.1	12.5	12.7	2.02	**	N.S.	N.S.
Xylanase	18.4	16.2	27.1	43.6	7.41	**	N.S.	N.S.
Amylase	15.6	16.6	25.7	28.4	5.49	*	N.S.	N.S.
Amylopectinase	4.6	6.5	7.2	35.0	8.15	*	*	0.06

†Probability; N.S.  $P > 0.10$ ; \* $P < 0.05$ , \*\* $P < 0.01$

‡Interaction of breed x diet

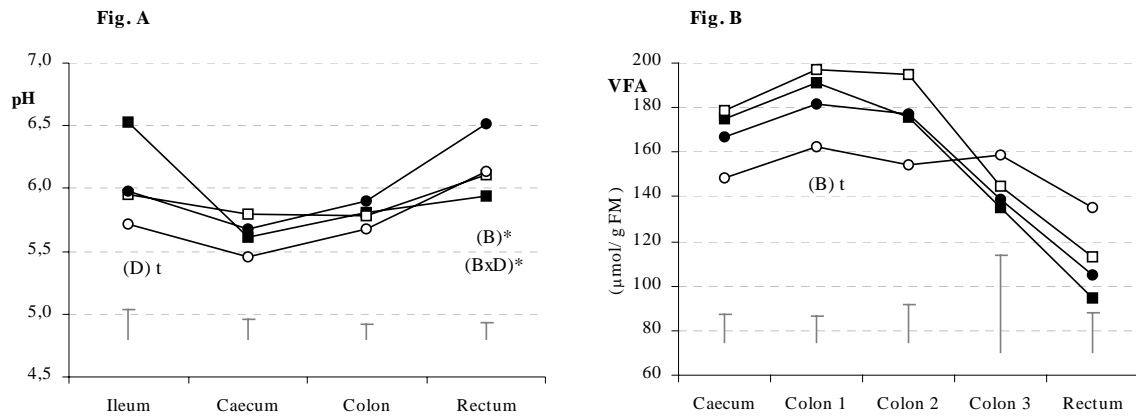
<sup>a,b</sup>Group means with different superscript letter in the same row were significantly different ( $P < 0.05$ )

#### Large bowel pH and VFA concentrations

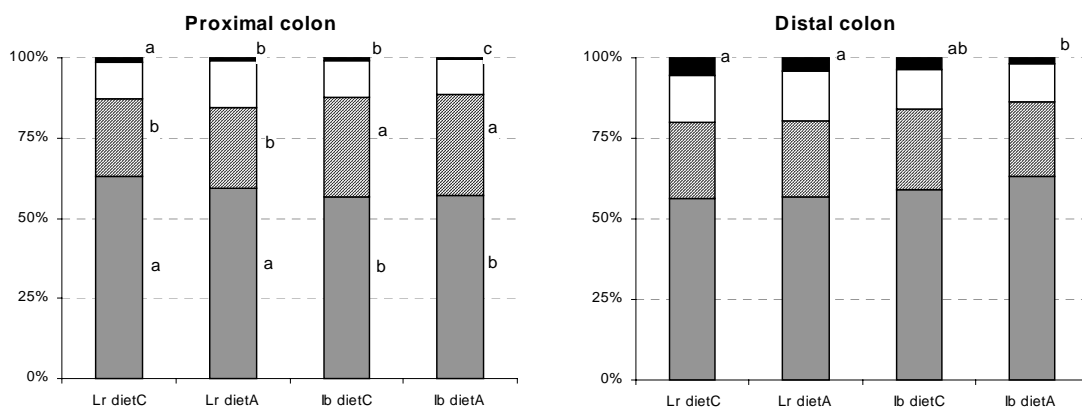
Average pH values (Figure 4.2) in ileal, caecal, middle colon and rectal digesta were 6.1, 5.6, 5.8 and 6.2, respectively, and no differences were observed between treatments. VFA concentrations (Figure 4.2) ranged from 95 to 200  $\mu\text{mol/g}$  digesta, reached the highest concentrations in the proximal (183.2) and medium (175.5) colonic digesta, and decreased progressively as digesta approached the rectum (111.9  $\mu\text{mol/g}$ ). Between treatments, concentrations of VFA tended to be lower in proximal colonic digesta of Iberian than in Landrace pigs (172.2 vs. 194.2  $\mu\text{mol/g}$ ;  $P = 0.06$ ). No significant differences were observed in the rest of the large intestine.

Individual VFA profiles in the proximal and distal colon digesta are presented in Figure 4.3. In the proximal colon, Iberian pigs showed higher propionate (31.0 vs. 24.4%,  $P < 0.001$ ) and lower acetate (56.1 vs. 60.1%,  $P = 0.040$ ) percentages than Landrace. No significant differences were observed between diets. A defined pattern throughout the large bowel for acetate, propionate and butyrate was not observed. However, propionate percentage in Iberian pigs decreased through the colon as the percentage of acetate increased. Branched-chain VFA showed increasing values from proximal (1.0%) to distal colon (3.6%), where they were lower in Iberian than Landrace pigs ( $P < 0.05$ ) and with diet A than diet C ( $P < 0.05$ ).

**Figure 4.2** - Evolution of the pH (Fig. A) and VFA concentration ( $\mu\text{mol/gFM}$ ; Fig. B) in ileum, caecal, colonic and rectal digesta of finishing pigs fed a corn (Landrace ■; Iberian ●) or a sorghum-acorn (Landrace □; Iberian ○) based diet. Standard errors are represented by vertical bars, and significant differences between breeds (B), diets (D) and interaction breed x diet (B x D) by t ( $P < 0.10$ ), \* ( $P < 0.05$ ), \*\* ( $P < 0.01$ ) and \*\*\* ( $P < 0.001$ ).



**Figure 4.3** - Volatile fatty acids (VFA) molar ratios of acetate (■), propionate (▨), butyrate (□) and Branched-chain VFA (BCVFA, ▩) in proximal and distal colonic digesta of Landrace (Lr) and Iberian (Ib) pigs fed a corn (diet C) or a sorghum-acorn (diet A) based diet. Group means with different letter (a,b,c) in the same row were significantly different ( $P < 0.05$ ).



#### 4.4 Discussion

The extent of microbial fermentation in the large bowel of growing pigs may depend on dietary factors or the breed. In particular, dietary parameters other than the NSP-content may reduce digestion in the small intestine, for example the content of resistant starch (Champ *et al.* 1998), protein-starch interactions (Rooney & Pflugfelder, 1986) or antinutritional factors (Lizardo *et al.* 1995). Moreover, comparison between breeds has also indicated differences in the feed intake and whole tract digestibility (Morales *et al.* 2001). In particular, Iberian pigs, an indigenous breed from the Southwest Iberian Peninsula and traditionally fattened in field conditions, were compared in the present study to Landrace to examine animal factors that might affect fore- and hindgut carbohydrate digestion.

##### Digestibility measurement procedures

Large amounts of digesta were collected from the caecum, colon and rectum after slaughtering, and fractional digestibility results obtained were consistent with other published results (Glitsø *et al.* 1998; Canibe & Bach Knudsen, 2001). However, smaller intestine digesta samples were collected from terminal ileum, which resulted in strange results, as here were the negative values observed for galactose and arabinose-xylose fractions for Iberian pigs. It appears that the samples obtained from ileum of slaughtered pigs were not representative of the total flow, probably due to phase separations between specific components of the digesta and the indigestible markers (Danfaer & Fernandez, 1999). This phenomenon could be aggravated by gut contractions at slaughter, and likely related with the high variability of the slaughter method (Prawirodigdo *et al.* 1998). Over the last 30 years, several studies have examined the digestion of NSP anterior to the caecum in pigs fitted with cannula in the terminal ileum or by slaughter. However, none of them indicate the overall superiority of any one procedure (Donkoh *et al.* 1994). In particular, the negative digestibility of some NSP fractions has also been observed after cannulation (Jørgensen *et al.* 1996; Glitsø *et al.* 1998; Canibe & Bach Knudsen, 2001). Cannulation has also received extensive criticisms revealing social concern about invasive procedures and the influence of surgery on the physiology of the animals (Canibe & Bach Knudsen, 2001).

##### Foregut digestion

Our results indicate that a considerable proportion of the NSP-glucose (54.7 vs. 77.7%) and most starch (93.1 vs. 99.7%) disappeared in the upper intestine. Moreover,

significant differences were observed between breeds, NSP digestion being higher in Landrace pigs. The disappearance of NSP in the upper intestine is caused by fermentation to volatile fatty acids, depending on the composition and structure of the dietary fibre. Virtually most  $\beta$ -glucans, approximately up to 0.4 of pentose sugars, such as xylose and arabinose, but not cellulose are digested before the ileum (Fadel *et al.* 1989; Glitsø *et al.* 1998; Bach Knudsen & Canibe, 2000). Marked differences between breeds observed in the present experiment could be due to longer transit times and a higher bacterial density in the small intestine of Landrace pigs.

In both breeds higher amounts of starch from diet A escaped small intestine digestion (Figure 4.1). Considering that no differences between diets in the resistant starch content were observed *in vitro*, it appears that foregut digestion of starch involves variables not accounted for by the analytical procedures *in vitro*. The amount of starch escaping foregut digestion *in vivo* may depend on the extent of chewing, the rate of orocecal transit, or the amount of starch ingested (Chapman *et al.* 1985; Englyst & Cummings, 1990). It has also been suggested that starch resisting hydrolysis *in vitro* could be affected by the particle size after the grinding of feed samples compared with the particle size resulting from chewing *in vivo* (Englyst *et al.* 1992). Nevertheless, it is remarkable that no interactions were observed with the animal breed.

#### Hindgut digestion

Hindgut fermentation compensated most differences observed in the amount of carbohydrates escaping small intestine digestion (Figure 4.1), except for Iberian pigs which did not degrade NSP-glucose as efficiently as Landrace pigs. The fraction analyzed as NSP-glucose is composed in cereals of cellulose (approximately two thirds) and non cellulosic glucose (one third), mainly from  $\beta$ -glucans (Bach Knudsen, 1997). This indicates an average involvement of both components on the fractional digestibility of NSP-glucose. Theoretically, differences in the effective degradation of NSP could be associated with differences in the microbial activities or the time available for degradation. There is unlikely to be an inherent restriction on microbial degradation in Iberian pigs, due to the high enzymatic activities observed in caecum digesta and bacteria (Table 4.4). On the other hand, the TT of digesta in the large bowel was much lower in Iberian than in Landrace pigs (Table 4.2). Many studies of plant cell-wall fermentation have established that fermentation is relatively slow (Van Soest *et al.* 1983) and variable among fibre sugars (Salvador *et al.* 1993), which means that variations in the TT might influence the extent of NSP digestion. Stephen *et al.* (1987) tested this

hypothesis by modifying the TT of digesta in the large bowel of human volunteers. Reducing TT had little effect on the faecal output of the major pentose sugars, but increased the output of cellulose. Our results on NSP-glucose digestibility, partly influenced by cellulose, are consistent with those of Stephen *et al.* (1987).

#### Microbial activity and fermentation parameters

Although nucleic acids and PB are among the most commonly used naturally occurring microbial markers for rumen studies (Pérez *et al.* 1997; Makkar & Becker, 1999), to our knowledge this is the first time that PB analysis has been used to quantify microbes in the large intestine. To obtain basic information on hindgut microbial proliferation, we assumed an average composition (324  $\mu\text{mol PB / g microbial CP}$ ) similar to bacteria isolated from rumen liquid samples (Pérez *et al.* 1997). Average microbial mass content estimated in digesta was 109 mg microbial CP / g DM in caecum, and significantly lower in middle colon (29 mg microbial CP / g DM). Bacteria inhabiting the colon of single-stomached animals obtain their energy mainly from dietary sugars that escaped foregut digestion (Bergman, 1990). However, as fermentable carbohydrates decline along the colon, bacteria switch to the degradation of proteinaceous material and autolysis (Reid & Hillman, 1999). Branched-chain VFA ratios also increased from proximal to distal colon, being considered characteristic products of the fermentation of certain amino acids. Purine bases in caecal digesta were lower in Iberian than in Landrace pigs, while the opposite occurred in the middle colon (especially on a daily flow basis), which reflects the higher extent of fermentation in the distal compartments of Iberian pigs. Concomitantly with the higher PB concentrations, significantly higher guanine: adenine (Gn:Ad) ratios were observed in caecal than in colonic digesta and in the middle colon of Iberian than in Landrace. Differences in the Gn:Ad ratios may reflect changes in the bacterial community composition in the gastrointestinal tract (Apajalahti *et al.* 1998). In the present experiment, the caecal population of Iberian pigs showed higher total and bacterial enzymatic activities than Landrace, which could reflect a selection of different species of bacteria by differences in the amount and type of substrates fermented and/or changes in the residence time of digesta (Table 4.2).

End-products of this fermentation have been described previously (Pérez *et al.* 2001). The results showed increases in caecal and proximal colon VFA content and a simultaneous fall in pH. Butyrate molar responses were observed in caecal digesta of Landrace pigs fed diet A ( $P$  breed  $\times$  diet = 0.05), while Iberian pigs fed diet A showed a tendency for propionate to increase in the proximal colon and acetate in distal colon



digesta. Many studies indicate that the nature and the amount of VFA produced are closely related to the type of sugars fermented (Salvador *et al.* 1993; Casterline *et al.* 1997). *In vivo* studies (Mathers *et al.* 1997; Topping *et al.* 1997) have provided evidence that starch fermentation leads to relatively higher molar ratios of butyrate, whereas Salvador *et al.* (1993) suggest that xylose is the most suitable of fibre sugars for the production of butyrate *in vitro*. Mathers & Dawson (1991) collated data on caecal TT and molar proportion of butyrate from four separate studies and observed that caecal butyrate increased sharply when caecal TT decreased below about 0.75 d. The present results in Iberian pigs conflict somewhat with those of Mathers & Dawson (1991). It is remarkable that the caecum of Iberian pigs also fermented significantly higher amounts of arabinose, xylose and galactose, which could affect the higher propionate production. Mortensen *et al.* (1988) reported that the degradation of pentose sugars leads to the production of propionic acid. Salvador *et al.* (1993) also cited the involvement of glucose, arabinose and xylose, but suggested that the formation of propionic acid was less predicted by sugar disappearance than other VFA, such as acetate and butyrate.

The present study provides an opportunity to evaluate factors modifying the sites and amounts of carbohydrate fermentation in pigs, based on the comparison of two genetically distinct strains (Serra *et al.* 1998) when feeding on diets differing in their carbohydrate sources. Some fractions of NSP were shown to be fermented in appreciable percentage before reaching the large bowel, and differences between breeds may have been due to differences in TT. The type and amount of carbohydrates reaching the large bowel, related with the diet but also with breeds, promoted differences in the microbial proliferation through the large bowel associated with different VFA patterns and changes in microbial activity.

### **Acknowledgements**

This study has been supported by the CICYT funded Project AGF98-0506.

## 4.6 References

- Anderson IH, Levine AS & Levitt MD (1981) Incomplete absorption of the carbohydrate in all-purpose wheat flour. *New England Journal of Medicine*, 304: 891-892.
- Annison G & Topping DL (1994) Nutritional role of resistant starch: chemical structure vs physiological function. *Annual Review of Nutrition*, 14: 297-320.
- Apajalahti JHA, Särkilahti LK, Mäki BRE, Heikkinen JP, Nurminen PH & Holben WE (1998) Effective recovery of bacterial DNA and percent-guanine-plus-cytosine-based analysis of community structure in the gastrointestinal tract of broiler chickens. *Applied and Environmental Microbiology*, 64: 4084-4088.
- Ashwell G (1957) Colorimetric analysis of sugars. In *Methods in enzymology*, 3, pp. 85-86 [S P Colowick and NO Kaplan, editors]. New York: Academic Press Inc.
- Association of Official Analytical Chemists (1984) *Official Methods of Analysis*, 14<sup>th</sup> ed. Washington, DC: Association of Analytical Chemists.
- Bach Knudsen KE (1997) Carbohydrate and lignin contents of plant materials used in animal feeding. *Animal Feed Sciences and Technology*, 67: 319-338.
- Bach Knudsen KE & Canibe N (2000) Breakdown of plant carbohydrates in the digestive tract of pigs fed on wheat- or oat-based rolls. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 80: 1253-1261.
- Bergman EN (1990) Energy contributions of volatile fatty acids from the gastrointestinal tract in various species. *Physiological Reviews*, 70: 567-590.
- Berry CS (1986) Resistant starch: formation and measurement of starch that survives exhaustive digestion with amylolytic enzymes during the determination of dietary fibre. *Journal of Cereal Science*, 4: 301-314.
- Canibe N & Bach Knudsen KE (2001) Degradation and physicochemical changes of barley and pea fibre along the gastrointestinal tract of pigs. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 82: 27-39.
- Casterline JL, Oles CJ & Ku Y (1997) In vitro fermentation of various food fiber fractions. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 45: 2463-2467.
- Champ MM (1992) Determination of resistant starch in foods and food products: interlaboratory study. *European Journal of Clinical Nutrition*, 46, Suppl. 1: s51-s61.
- Champ MM, Molis C, Flourié B, Bornet F, Pellier P, Colonna P, Galmiche JP & Rambaud JC (1998) Small-intestinal digestion of partially resistant cornstarch in healthy subjects. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 68: 705-710.
- Chapman RW, Sillery JK, Graham MM & Saunders DR (1985) Absorption of starch by healthy ileostomates: effect of transit time and of carbohydrate load. *American Journal of Clinical Nutrition*, 41: 1244-1248.

Danfaer A & Fernandez JA (1999) Developments in the prediction of nutrient availability in pigs: a review. *Acta Agriculturae scandinavica*, 49: 73-82.

Donkoh A, Moughan PJ & Smith WC (1994) Comparison of the slaughter method and simple T-piece cannulation of the terminal ileum for determining ileal amino acid digestibility in meat and bone meal for the growing pig. *Animal Feed Science and Technology*, 49: 43-56.

Englyst HN & Cummings JH (1990) Non-starch polysaccharides (dietary fiber) and resistant starch. In *New Developments in Dietary Fiber. Physiological, Physicochemical, and Analytical Aspects*, pp. 205-225 [I Furda and CJ Brine, editors]. New York and London: Plenum Press.

Englyst HN, Kingman SM & Cummings JH (1992) Classification and measurement of nutritionally important starch fractions. *European Journal of Clinical Nutrition*, 46, Suppl. 2: s33-s50.

Englyst HN, Wiggins HS & Cummings JH (1982) Determination of non-starch polysaccharides in plant foods by gas liquid chromatography of constituents sugars as alditol acetates. *Analyst*, 107: 307-318.

Fadel JG, Newman RK, Newman CW & Graham H (1989) Effects of baking hullless barley on the digestibility of dietary components as measured at the ileum and in the feces of pigs. *Journal of Nutrition*, 119: 722-726.

Gallant DJ, Bouchet B, Buléon A & Pérez S (1992) Physical characteristics of starch granules and susceptibility to enzymatic degradation. *European Journal of Clinical Nutrition*, 46, Suppl. 2: s3-s16.

Glitsø LV, Brunsgaard G, Højsgaard S, Sandström B & Bach Knudsen KE (1998) Intestinal degradation in pigs of rye dietary fibre with different structural characteristics. *British Journal of Nutrition*, 80: 457-468.

Goering HK & Van Soest PJ (1970) Forage Fiber Analysis (apparatus, reagents, procedures, and some applications). Agricultural Handbook 379. ARS, USDA, Washington, DC.

Goodlad JS & Mathers JC (1987) Digesta flow from the ileum and transit time through the caecum of rats given diets containing graded levels of peas. *Proceedings of the Nutrition Society*, 46: 149A.

Jensen BB (2001) Possible ways of modifying type and amounts of products from microbial fermentation in the gut. In *Gut environment of pigs*, pp. 181-200 [A Piva, KE Bach Knudsen and JE Lindberg, editors]. Nottingham, UK: Nottingham University Press.

Jørgensen H, Zhao XQ & Eggum BO (1996) The influence of dietary fibre and environmental temperature on the development of the gastrointestinal tract, digestibility, degree of fermentation in the hind-gut and energy metabolism in pigs. *British Journal of Nutrition*, 75: 365-378.

Jouany JP (1982) Volatile fatty acid and alcohol determination in digestive contents, silage juices, bacterial cultures and anaerobic fermentor contents. *Science des Aliments*, 2: 131-144.

Lizardo R, Peiniau J & Aumaitre A (1995) Effect of sorghum on performance, digestibility of dietary components and activities of pancreatic and intestinal enzymes in the weaned piglet. *Animal Feed Science and Technology*, 56: 67-82.

Makkar HPS & Becker K (1999) Purine quantification in digesta from ruminants by spectrophotometric and HPLC methods. *British Journal of Nutrition*, 81: 107-112.

Mathers JC & Dawson LD (1991) Large bowel fermentation in rats eating processed potatoes. *British Journal of Nutrition*, 66: 313-329.

Mathers JC, Smith H & Carter S (1997) Dose-response effects of raw potato starch on small intestinal escape, large-bowel fermentation and gut transit time in the rat. *British Journal of Nutrition*, 78: 1015-1029.

Morales J, Pérez JF, Baucells MD, Gasa A & Gasa J (2001) Comparative digestibility and productive performances between Landrace and Iberian pigs fed on a corn- or a sorghum-acorn-based diet. In *Digestive Physiology in Pigs*, chapter 63, pp. 227-229 [JE Lindberg and B Ogle, editors]. Oxon, UK: CABI Publishing.

Mortensen B, Holtug K & Rasmussen HS (1988) Short-chain fatty acid production from mono- and disaccharides in a fecal incubation system: implications for colonic fermentation of dietary fiber in humans. *Journal of Nutrition*, 118: 321-325.

Noblet J, Fortune H, Shi XS & Dubois S (1994) Prediction of net energy value of feeds for growing pigs. *Journal of Animal Science*, 72: 344-354.

Pérez JF, Balcells J, Guada JA & Castrillo C (1997) Rumen microbial production estimated either from urinary purine derivative excretion or from direct measurements of <sup>15</sup>N and purine bases as microbial markers: effect of protein source and rumen bacteria isolates. *Animal Science*, 65: 225-236.

Pérez JF, Morales J, Baucells MD & Gasa J (2001) An increased hindgut fermentation promoted major changes on the VFA profile but not on the total VFA concentration or the digesta contents. In *Digestive Physiology in Pigs*, chapter 62, pp. 224-226 [JE Lindberg and B Ogle, editors]. Oxon, UK: CABI Publishing.

Prawirodigdo S, Gannon NJ, van Barneveld RJ, Kerton DJ, Leury BJ & Dunshea FR (1998) Assessment of apparent ileal digestibility of amino acids and nitrogen in cottonseed and soyabean meals fed to pigs determined using ileal dissection under halothane anaesthesia or following carbon dioxide-stunning. *British Journal of Nutrition*, 80: 183-191.

Reid CA & Hillman K (1999). The effects of retrogradation and amylose/amylopectin ratio of starches on carbohydrate fermentation and microbial populations in the porcine colon. *Animal Science*, 68: 503-510.

Rooney LW & Pflugfelder RL (1986) Factors affecting starch digestibility with special emphasis on sorghum and corn. *Journal of Animal Science*, 63: 1607-1623.

Salvador V, Cherbut C, Barry JI, Bertrand D, Bonnet C & Delort-Laval J (1993) Sugar composition of dietary fibre and short-chain fatty acid production during in vitro fermentation by human bacteria. *British Journal of Nutrition*, 70: 189-197.

Serra X, Gil F, Pérez-Enciso M, Oliver MA, Vázquez JM, Gispert M, Día I, Moreno F, Latorre R & Noguera JL (1998) A comparison of carcass, meat quality and histochemical characteristics of Iberian (Guadyerbas line) and Landrace pigs. *Livestock Production Science*, 56: 215-223.

Silva AT, Wallace RJ & Ørskov ER (1987) Use of particle-bound microbial enzyme activity to predict the rate and extent of fibre degradation in the rumen. *British Journal of Nutrition*, 57: 407-415.

Stephen AM, Wiggins HS & Cummings JH (1987) Effects of changing transit time on colonic microbial metabolism in man. *Gut*, 28: 601-609.

Theander O (1991) Chemical analysis of lignocellulosic materials. *Animal Feed Science and Technology*, 32: 35-44.

Topping DL, Gooden JM, Brown IL, Biebrick DA, McGrath L, Trimble RP, Choct M & Illman RJ (1997) A high amylose (amylomaize) starch raises proximal large bowel starch and increases colon length in pigs. *Journal of Nutrition*, 127: 615-622.

Van Soest PJ, Jeraci J, Foose T, Wrick K & Ehle F (1983) Comparative fermentation of fibre in man and other animals. In: *Fibre in Human and Animal Nutrition*, pp. 75-80 [G Wallace and L Bell, editors]. Wellington, New Zealand: The Royal Society of New Zealand.

Yen JT, Nienaber JA, Hill DA & Pond WG (1991) Potential contribution of absorbed volatile fatty acids to whole-animal energy requirement in conscious swine. *Journal of Animal Science*, 9: 2001-2012.

Williams CH, David DJ & Iismaa O (1962) The determination of chromic oxide in faeces samples by atomic absorption spectrophotometry. *Journal of Agricultural Science*, 59: 381-385.

## **CAPÍTULO 5**

**Digestibilidad comparada entre cerdos Ibéricos y Landrace alimentados  
con maíz o bellota y sorgo.**

MORALES, J.; PÉREZ, J. F.; ANGUITA, M.; MARTÍN-ORÚE, S.M.; FONDEVILA, M. y  
GASA, J. 2003.

Comparative digestibility in iberian and landrace finishing pigs fed corn- or acorn-  
sorghum- based diets

Archivos de Zootecnia, 52. 2003. *En prensa.*

---

**RESUMEN**

Con el objetivo de valorar los factores animales que puedan afectar a la digestión de los carbohidratos, administramos a 24 cerdos (12 ibéricos y 12 landrace; 108 kg PV), dos raciones que diferían en la composición de sus ingredientes mayoritarios, maíz (ración MZ) o bellota y sorgo (ración SB). Durante el período experimental se determinó el consumo de alimento (CMD), la ganancia de peso (GMD) y el índice de conversión. Cuando los animales alcanzaron un peso vivo medio de 135 kg se sacrificaron, se registró el peso del tracto digestivo y se recogieron muestras de su contenido, para estudiar la digestibilidad ileal y la digestión microbiana en el intestino grueso. Los cerdos ibéricos mostraron un mayor CMD que los landrace (3572 vs. 2437 g/d;  $P < 0,001$ ), sin que se observaran diferencias en GMD. Los cerdos ibéricos presentaron también un menor tiempo de retención de la digesta en el compartimento ciego-colon (7,6 vs. 23,7 h;  $P < 0,01$ ). La ración MZ provocó un mayor consumo de alimento y una superior GMD que la ración SB. La digestibilidad ileal de la MO fue superior en landrace que en ibéricos ( $P < 0,05$ ) y con la ración MZ que con la ración SB ( $P < 0,01$ ). La fermentación microbiana en el tracto digestivo posterior no fue capaz de compensar estas diferencias, en especial en los cerdos ibéricos. Los resultados también evidencian diferencias entre razas en la actividad enzimática microbiana del tracto digestivo posterior.

## 5.1 Introducción

Junto a las características intrínsecas del cerdo ibérico, derivadas de su mayor adiposidad, la alimentación en extensivo de los animales determina en buena medida las características y elevada aceptabilidad de sus productos cárnicos (López-Bote, 1998). Así, la producción porcina en montanera se sustenta en una variedad de alimentos diferenciados de los habitualmente utilizados en los sistemas de producción más intensivos, entre los que destacan las bellotas y el pasto. La bellota contiene (Fedna, 1999) aproximadamente un 60% MS, en la que destaca un contenido apreciable de grasa (7,9% MS<sup>-1</sup>, rica en ácido oleico) y almidón (43,3% MS<sup>-1</sup>); mientras la hierba está constituida mayoritariamente por carbohidratos de pared vegetal y proteína, en proporciones variables.

Según López-Bote (1998), el elevado contenido graso de la bellota determina en gran medida el depósito graso del animal. Sin embargo, tanto en la bellota como en la hierba, el mayor aporte dietético de energía se produce en forma de carbohidratos, cuyo valor nutritivo presenta todavía numerosas incertidumbres. En especial, se desconocen aspectos básicos, como la capacidad intrínseca de cada raza para utilizar mediante fermentación los diferentes carbohidratos de la fibra dietética. Desde la lógica de los procesos de adaptación, puede hipotetizarse que los cerdos ibéricos, habitualmente criados en extensivo, pueden presentar una capacidad de digestión de la fibra superior a las líneas mejoradas criadas en intensivo. Sin embargo, no existen evidencias experimentales que avalen esta hipótesis.

El presente trabajo estudia, en cerdos Ibéricos y Landrace, los factores animales condicionantes de la digestión de los carbohidratos contenidos en dos raciones muy diferenciadas en sus ingredientes mayoritarios, maíz (74%) o bellota (40%) y sorgo (20%). Se valoran parámetros descriptivos de la digestión enzimática en el intestino delgado y microbiana en el intestino grueso.

## 5.2 Materiales y Métodos

El experimento se desarrolló en las instalaciones del servicio de granjas y campos experimentales de la Universitat Autònoma de Barcelona tras recibir el permiso de su Comisión de Ética en Experimentación Animal y Humana.



### Animales y dietas

Se utilizaron 24 cerdos machos castrados (12 Landrace, 12 Ibéricos) con un peso inicial de  $108 \pm 4.6$  kg, y previamente adaptados (6 Landrace y 6 Ibéricos, respectivamente) a raciones con contenidos mayoritarios de maíz o con cantidades significativas de bellota y sorgo (Morales *et al.*, 2001). Los animales fueron alojados en 12 cubículos (2 animales/cubículo) y alimentados con dos raciones experimentales (Ración MZ, con 740 g/kg de maíz, o ración SB, con 400 g/kg de bellota y 200 g/kg de sorgo) en un diseño factorial (2 razas x 2 raciones; 6 animales / tratamiento). En las tablas 5.1 y 5.2 se presentan la proporción de ingredientes y la composición analítica de las raciones experimentales, y la composición de los ingredientes, respectivamente. La bellota incorporada al pienso fue desecada artificialmente y descascarillada parcialmente (restante un 12% MS<sup>-1</sup>) mediante un proceso mecánico (molienda, separación por corriente de aire y secado). Para equiparar el contenido de cascarilla entre raciones experimentales y equilibrar sus posibles efectos negativos se añadió sobre la ración MZ una cantidad equivalente de cascarilla a la contenida en la ración SB. Con el mismo objetivo, se intentó igualar la composición en ácidos grasos de cadena larga incluyendo aceite de oliva en la ración MZ y aceite de maíz en la ración SB. Se utilizó Cr<sub>2</sub>O<sub>3</sub> (0,15%) como marcador indigestible.

### Protocolo Experimental

Los animales recibieron la ración a voluntad hasta alcanzar un peso medio final de 133 kg. Durante este periodo se registró el consumo de alimento por réplica y la ganancia media diaria de peso de los animales. Conforme los animales alcanzaron el peso final aproximado, se procedió a su sacrificio en matadero comercial sin ayuno previo. Aproximadamente 10 minutos tras el sacrificio se extrajo el tracto digestivo desde el estómago hasta el recto, se pesó y se procedió a la compartimentación y registro del peso del estómago, intestino delgado, ciego y colon. Tras la incisión de los compartimentos, se pesaron los contenidos y se tomaron muestras de digesta cecal, que fueron congeladas en N<sub>2</sub> líquido y almacenadas a -70°C hasta el análisis de la actividad enzimática microbiana. Se tomaron muestras de digesta en ciego, colon y recto, acidificadas con H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> (aproximadamente 4 g de digesta/ml de una solución de H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> (5%), cloruro de mercurio (1%), y 50mM 3 metil valérico como indicador interno) y almacenadas (-20°C) hasta el análisis de su concentración en ácidos grasos volátiles (AGVs). Una muestra de contenido digestivo de cada compartimento, ileon, ciego, colon y recto, se liofilizó y almacenó hasta el análisis de su concentración de cromo, bases púricas (BP) y monosacáridos.

**Tabla 5.1** - Composición y contenido en nutrientes de las raciones experimentales.

	Ración MZ	Ración SB
<b>Ingredientes (g/kgMF)</b>		
Maíz	737	202
Bellota descascarillada	-	400
Sorgo	-	200
Harina de soja 44	152	159
Cascarilla de bellota	48	-
Aceite de maíz	-	14
Aceite de oliva	38	-
Premezcla*	25	25
<b>Análisis químico (g/kg MS)</b>		
Proteína bruta	136,6	144,6
Extracto etéreo	82,6	76,6
PNA		
Glucosa	64,8	91,0
Otros <sup>†</sup>	53,5	57,0
Almidón		
Total	536,5	389,1
Resistente	140,4	134,0
Lignina	19,8	25,6
Taninos	1,4	13,7
Energía bruta (kcal/kg)	4036	4093

\*La premezcla contenía lo siguiente (por kg): CaCO<sub>3</sub> 5,7 g, CaHPO<sub>4</sub> 6,9 g, NaCl 2,3 g, vitamina A, 7.000 IU; vitamina D<sub>3</sub>, 1.800 UI; vitamina E, 10 mg; vitamina K<sub>3</sub>, 1 mg; vitamina B<sub>1</sub>, 1 mg; vitamina B<sub>2</sub>, 4 mg; vitamina B<sub>6</sub>, 2 mg; vitamina B<sub>12</sub>, 20 µg; biotina, 10 µg; niacina, 18 mg; Ca-d-ácido pantoténico, 10 mg; colina, 175 mg. Minerales: Fe, 80 mg; Zn, 110 mg; Cu, 90 mg; Mn, 50 mg; Co, 0,1 mg; I, 1 mg; Se, 0,2 mg. 150 mg de Etoxiquin® and 500 mg de Luctamold®.

<sup>†</sup>Incluye: galactosa, arabinosa, xilosa, manosa, ramnosa y fucosa.

### Procedimientos Analíticos

Las determinaciones analíticas de cenizas, proteína bruta, grasa y taninos en las raciones y la digesta se realizó siguiendo protocolos propuestos por la AOAC (1984). El contenido en lignina se determinó siguiendo el protocolo de Goering y Van Soest (1970). La energía bruta se determinó mediante bomba calorimétrica. El análisis de los monosacáridos neutros en alimentos y digesta se realizó mediante cromatografía de gas-líquido según el procedimiento propuesto por Theander (1991). El almidón resistente se determinó mediante el procedimiento descrito por Champ (1992) como la parte de almidón que escapa a la digestión e hidrólisis tras su incubación *in vitro* con  $\alpha$ -

amilasa. La concentración de óxido de Cromo III en la ración y la digesta se determinó mediante el método de Williams *et al.* (1962).

**Tabla 5.2 - Composición analítica (g/kg MS) de los principales ingredientes.**

	Maíz	Bellota	Sorgo	Soja	Cascarilla
Proteína bruta	85,3	53,7	134,0	487,8	33,2
Extracto etéreo	40,4	88,0	32,7	23,3	14,4
PNA					
Glucosa	104,3	121,0	114,6	48,9	23,8
Otros					
Galactosa	4,6	14,3	4,7	49,7	21,9
Xilosa	20,8	31,7	14,6	15,3	123,0
Arabinosa	16,6	11,7	13,2	23,4	27,2
Almidón					
Total	633,2	292,2	561,7	46,8	12,6
Resistente	190,0	181,0	118,0	-	-
Lignina	12,3	92,9	13,4	13,0	304,0
Taninos	0	58,2	0,8	-	84,5
Energía bruta (kcal/kg)	4711	4921	4748	4960	4785

La concentración de AGVs en la digesta se determinó mediante cromatografía (Jouany, 1982). La concentración de la digesta en bases púricas (BP, adenina y guanina) se determinó mediante cromatografía líquida de alta resolución HPLC (Makkar y Becker, 1999) tras la hidrólisis de las muestras con ácido perclórico (2M, 100°C, 1h). La extracción de los enzimas microbianos del contenido digestivo cecal se realizó mediante hidrólisis con lisozimas y posterior centrifugado (Nogueira *et al.*, 2000) conservándose a -20°C hasta su análisis. La actividad polisacaridasa del extracto se midió siguiendo el método de Nelson-Somogyi (Ashwell, 1957) frente a diferentes substratos: carboximetil-celulosa (Sigma ref. C-8758; actividad CMCasa), xilano de cascarilla de avena (Sigma ref. X-0627; actividad xilanasa), almidón soluble de patata (PANREAC 121096; actividad amilasa) y amilopectina de maíz (Sigma ref. S-9679; actividad amilopectinasa). La actividad enzimática se expresó en base a nmol de azúcares neutros liberados por g de MS (actividad enzimática total) o  $\mu\text{mol}$  de BP (actividad enzimática bacteriana), ésta última expresión como indicador de la actividad enzimática inherente a la población microbiana.

### Cálculos y análisis estadístico

La digestibilidad aparente de la ración en los diferentes segmentos se determinó mediante las relaciones con el marcador indigestible ( $Cr_2O_3$ ).

$$CD(X) = \left[ 1 - \left( \frac{Cr_p}{Cr_d} \times \frac{Xd}{Xp} \right) \right] \times 100$$

donde  $CD(X)$  es el coeficiente de digestibilidad de un nutriente  $X_i$ , en tanto por cien;  $Cr_p$ , la concentración de cromo en el pienso (ppm);  $Cr_d$ , la concentración de cromo en el contenido digestivo (ppm);  $Xp$ , el contenido del nutriente en el pienso (%); y  $Xd$ , el contenido del nutriente en el contenido digestivo (%). Los tiempos medios de retención (TMR) de la digesta en ciego y colon se determinaron a partir de la relación entre la cantidad de marcador ( $Q_{Cr}$ ) presente en cada compartimento y la ingestión diaria de marcador ( $I_{Cr}$ ):

$$TMR_{Cr} = Q_{Cr} / I_{Cr}$$

Los datos fueron analizados estadísticamente mediante análisis de varianza, y la realización de comparaciones entre medias mediante el test de Tukey, utilizando el modelo lineal general (GLM) del paquete estadístico SAS (SAS, 1996).

### **5.3 Resultados y Discusión**

La composición analítica de las raciones experimentales reflejó diferencias en la composición de sus carbohidratos mayoritarios, siendo superior la cantidad total de almidón (538 g/kg) en la ración MZ que en la ración SB (391 g/kg), aunque menor en los componente de la fibra (118 vs. 148 g/kg). Es de destacar la presencia de taninos en la bellota, tanto en los cotiledones (43,4 g ácido quercitánico/kg) como en la cascarilla (84,5 g/kg), en contraste con las cantidades prácticamente inapreciables del maíz o el sorgo. Como consecuencia el contenido de taninos en la ración SB (13,7 g/kg) fue superior que en la ración MZ (1,4 g/kg).

### Producción y contenidos digestivos

Los animales ibéricos presentaron un consumo de alimento (tabla 5.3) superior a los Landrace (3572 vs. 2437 g/d;  $P < 0,001$ ), así como una tendencia a mayores índices de conversión (4,9 vs. 3,6;  $P = 0,09$ ). Entre raciones, la ingestión voluntaria tendió a ser superior ( $P = 0,08$ ) con la ración MZ (3158 g/d) que con la ración SB (2853 g/d); y

proporcionó crecimientos superiores (838 vs. 613;  $P < 0,05$ ). Diferencias similares en el consumo de alimento e índices de conversión entre ibéricos y landrace fueron observadas en el periodo preexperimental (Morales *et al.*, 2001) posiblemente asociadas al mayor depósito de grasa en los ibéricos. Con un peso medio al sacrificio de 133 kg, el espesor medio de grasa dorsal de los ibéricos fue de 72 mm frente a los 32 mm de los landrace. Aunque pueden existir diferencias de madurez, las diferencias señaladas de ingestión y depósito de grasa sugieren diferencias fisiológicas en la regulación lipostática de la ingestión voluntaria.

**Tabla 5.3** - Efecto de la ración MZ ó SB sobre el consumo voluntario (g/d), ganancia de peso (GMD, g/d) e índices de conversión (IC, g/g), peso del contenido de los diferentes compartimentos digestivos al sacrificio (g) y tiempo medio de retención de la digesta (TMR, h) en cerdos en acabado Landrace e Ibéricos.

	LANDRACE		IBÉRICO		n	e.s.	Probabilidad <sup>a</sup>		
	MZ	SB	MZ	SB			Raza	Dieta	Inter. <sup>b</sup>
Peso vivo final (kg)	134,2	128,5	137,8	130,3	6	1,47	<i>t</i>	***	N.S.
Consumo voluntario	2574	2301	3739	3405	3	128	***	<i>t</i>	N.S.
GMD	740	612	936	613	6	72	N.S.	*	N.S.
IC	3,48	3,81	4,00	5,73	3	0,565	<i>t</i>	N.S.	N.S.
Peso canal (kg)	104,8	99,6	108,4	100,3	6	1,35	0,11	***	N.S.
Peso Tracto digestivo	9795	11157	11106	11042	6	701,5	N.S.	N.S.	N.S.
Contenido Digesta									
Estómago	875	1338	1764	2160	6	29,4	**	0,15	N.S.
Ciego	189	188	325	344	6	57,7	*	N.S.	N.S.
Colon	2113	3042	1711	1715	6	161,0	***	**	**
TMR ciego-colon (h)	24,7	22,6	8,6	6,6	3	2,91	**	N.S.	N.S.

<sup>a</sup>N.S.  $P > 0,10$ ; *t*  $P < 0,10$ ; \* $P < 0,05$ ; \*\* $P < 0,01$ ; \*\*\* $P < 0,001$

<sup>b</sup>*P* inter., *P* breed x diet

No obstante, los elevados índices de conversión de los cerdos ibéricos alimentados con la ración SB parecen sugerir en estos animales un particular menor aprovechamiento digestivo de esta ración, posiblemente dependiente de características intrínsecas de su tracto digestivo o comportamiento alimentario. Así, el peso total del tracto digestivo no presentó diferencias significativas entre razas, aunque sí el de sus contenidos (tabla

5.3). Los cerdos ibéricos prácticamente duplicaron el contenido digestivo de los landrace en estómago (1962 vs. 1106 g;  $P<0.01$ ) y ciego (334 vs. 188 g;  $P<0.05$ ), aunque fue menor en el colon (1713 vs. 2577 g;  $P<0.05$ ). Considerando que los animales recibieron el alimento a voluntad, y que el número de ingestiones a lo largo del día para diferentes razas porcinas (Duroc, Landrace, Large White y Pietrain) es generalmente superior a 14 comidas (Fernández-Capo, 2001), las diferencias observadas en el presente estudio en los contenidos digestivos parecen reflejar variaciones en los flujos de entrada o de salida de la digesta. De esta manera, el mayor consumo de alimento de los cerdos ibéricos parece determinar una mayor distensión del estómago, así como un menor tiempo de retención de la digesta en el compartimento ciego-colon.

El contenido digestivo del colon en los cerdos landrace alimentados con la ración SB fue superior que con la ración MZ, reflejando posiblemente la llegada de una mayor cantidad de sustrato. No se observó una variación similar en los animales ibéricos. Diferencias similares han sido observadas por Pond *et al.* (1988) al comparar dos líneas genéticas (magra vs. grasa) alimentadas de forma restringida. Los resultados evidenciaron un mayor ritmo de vaciado de la digesta en la línea obesa, lo que demuestra una determinación genética de este parámetro.

#### Digestibilidad de la ración

Los cerdos landrace presentaron (tabla 5.4) una mayor digestibilidad ileal de la MO que los ibéricos (68 vs. 61%;  $P<0,05$ ). Sin embargo, esta diferencia no se correspondió con una mayor digestibilidad ileal de las diferentes fracciones de carbohidratos. Entre raciones, MZ fue más digestible en el ileon que SB, observándose diferencias tanto en la MO ( $P<0,01$ ) como en el almidón ( $P<0,001$ ). Considerando que no se habían detectado *in vitro* diferencias entre raciones en el contenido de almidón resistente (tabla 5.1), las diferencias de digestibilidad ileal del almidón sugieren la influencia de variables digestivas no incluidas en los procedimientos analíticos *in vitro*.

La digestibilidad aparente de la MO en todo el tracto digestivo presentó menores variaciones cuantitativas, aunque estadísticamente significativas. En particular, los landrace presentaron mayores valores que los ibéricos (84,1 vs. 82,7%;  $P<0,01$ ), y la ración MZ que la ración SB (86,0 vs. 80,8%;  $P<0,001$ ). Las diferencias fueron debidas en gran medida a diferencias observadas en la fracción de carbohidratos entre razas, y en la proteína entre raciones. En particular, los cerdos landrace presentaron una mayor

digestibilidad del almidón (99,6 vs. 98,4%;  $P < 0,01$ ) y PNA (67,3 vs. 53,2%;  $P < 0,001$ ) que los ibéricos. Considerando que la fermentación es un proceso lento, la cantidad de sustrato realmente fermentado en los ibéricos puede haber sido comprometida por los reducidos tiempos de retención de la digesta en tracto digestivo posterior (Stephen *et al.*, 1987).

**Tabla 5.4** - Efecto de la dieta MZ ó SB sobre las digestibilidades aparentes en íleon y recto (%) de la MO, proteína bruta, carbohidratos (almidón y polisacáridos no amiláceos; PNA) y energía bruta en cerdos en acabado Landrace e Ibéricos.

	LANDRACE		IBÉRICO		e.s.	Probabilidad <sup>a</sup>		
	MZ	SB	MZ	SB		Raza	Dieta	Inter. <sup>b</sup>
<i>Ileal</i>								
MO	74,3	61,8	69,9	53,9	3,81	*	**	N.S.
Almidón	97,4	87,1	98,1	96,1	1,75	**	***	*
PNA	41,9	47,9	40,6	48,3	5,34	N.S.	N.S.	N.S.
<i>Rectal</i>								
MO	86,4	81,8	85,5	79,8	0,49	**	***	N.S.
Almidón	99,8	99,4	99,4	97,4	0,40	**	*	*
PNA	61,1	73,4	50,0	56,4	3,68	***	**	N.S.
Proteína bruta	80,5	63,4	78,9	60,1	0,95	**	***	<i>t</i>
Energía	80,8	74,1	79,9	73,9	1,24	N.S.	***	N.S.

<sup>a</sup>n=6

N.S.  $P > 0,10$ ; *t*  $P < 0,10$ ; \* $P < 0,05$ ; \*\* $P < 0,01$ ; \*\*\* $P < 0,001$

<sup>b</sup>*P* inter., *P* breed x diet

La menor digestibilidad de la proteína con la ración SB puede ser debida en gran medida a la mayor presencia de taninos en esta ración, y a su posible influencia sobre la digestión enzimática y microbiana (van der Poel *et al.*, 1992). Para evaluar posibles variaciones en la fermentación microbiana analizamos la proliferación microbiana en el contenido digestivo y sus actividades enzimáticas.

#### Concentración de BP y actividades enzimáticas en digesta posterior

En lo que se refiere a la proliferación microbiana (tabla 5.5), tanto la concentración y flujo de bases púricas como la relación guanina:adenina fue superior en ciego que en el

colon. Estos resultados sugieren que la mayor parte del desarrollo microbiano se produce en el ciego y primeros tramos del colon, a partir de donde se produce una gran autólisis de la población microbiana. La administración de la ración de bellota, con una mayor cantidad de sustrato susceptible de fermentación, proporcionó un mayor desarrollo de la flora microbiana en la digesta del ciego ( $P < 0,001$ ) y en menor medida del colon ( $P < 0,05$ ). Entre razas, los cerdos landrace presentaron en el ciego una mayor concentración ( $41,9$  vs.  $26,3$   $\mu\text{mol/gMS}$ ;  $P < 0,001$ ) y un mayor flujo diario de BP ( $8,6$  vs.  $5,6$   $\mu\text{mol/d}$ ;  $P < 0,001$ ) que los cerdos ibéricos; mientras lo contrario se observó en colon intermedio ( $1,3$  vs.  $1,6$   $\mu\text{mol/d}$ ,  $P < 0,01$ ). El menor tiempo de retención de la digesta en los cerdos ibéricos puede haber supuesto un desplazamiento de la fermentación, y por lo tanto una reducción de la autólisis microbiana. La relación guanina:adenina en el contenido digestivo de los cerdos ibéricos presentó mayores relaciones que los landrace, tanto en digesta de ciego ( $1,48$  vs.  $1,32$ ;  $P < 0,01$ ) como colon intermedio ( $1,18$  vs.  $1,06$ ;  $P < 0,001$ ). Este resultado sugiere diferencias en las poblaciones microbianas mayoritarias del tracto digestivo, o en su actividad celular de síntesis proteica.

**Tabla 5.5** - Concentración en bases púricas (BP;  $\mu\text{mol} / \text{g MS}$  y  $\mu\text{mol} / \text{g Cr}$ ) y relación guanina:adenina (Gn:Ad) en la digesta del ciego y colon en cerdos Landrace e Ibéricos alimentados con la ración MZ ó SB.

	LANDRACE		IBÉRICO		<i>e.s.</i>	<i>*Probabilidad</i>		
	MZ	SB	MZ	SB		Raza	Dieta	<sup>†</sup> Interac.
BP/gMS								
Ciego	38,5	45,5	25,9	26,7	3,33	***	0,21	NS
Colon	8,0	7,9	8,8	8,9	0,75	NS	NS	NS
BP/g Cr								
Ciego	6,78	10,51	4,60	6,56	0,686	***	***	NS
Colon	1,03	1,49	1,36	1,77	0,141	**	*	NS
Relación Gn:Ad								
Ciego	1,33	1,31	1,45	1,51	0,047	**	NS	NS
Colon	1,06	1,07	1,17	1,19	0,016	***	NS	NS

\*Probabilidad; N.S.  $P > 0,05$ ; \* $P < 0,05$ ; \*\* $P < 0,01$ ; \*\*\* $P < 0,001$

<sup>†</sup> $P$  inter.,  $P$  raza x ración

Los valores de actividad enzimática en el ciego (tabla 5.6) parecen apuntar a esta hipótesis. Aunque no se observaron diferencias significativas por gramo de digesta, las actividades enzimáticas expresadas por unidad de bases púricas fueron superiores en los cerdos ibéricos que en los landrace, especialmente para la CMCasa ( $11,0$  vs.  $6,4$   $\text{nmol}/\mu\text{molBP}$ ;  $P < 0,01$ ), amilasa ( $26,8$  vs.  $11,9$   $\text{nmol}/\mu\text{molBP}$ ;  $P < 0,01$ ) y amilopectinasa



(10,8 vs. 4,2 nmol/ $\mu$ molBP;  $P < 0,10$ ). Es posible que diferencias entre razas en características y cantidad del sustrato fermentado o en los tiempos de retención de la digesta puedan determinar una selección específica de poblaciones microbianas de diferente ritmo de división y actividad enzimática. Entre raciones, el tratamiento de bellota-sorgo proporcionó una flora microbiana que tendió a una menor actividad enzimática. Cabe resaltar la contradicción que supone que esta ración proporcione a ciego-colon una mayor cantidad de sustrato, estimule un incremento en la proliferación microbiana, y a su vez provoque un descenso de su actividad enzimática. Es posible que la capacidad de los taninos de formar complejos con estructuras proteicas, a veces irreversibles (van der Poel *et al.*, 1992; Jansman, 1993) pueda haber limitado la actividad enzimática de la flora microbiana.

**Tabla 5.6** - Efecto de la ración MZ ó SB sobre las actividades enzimáticas (nmol glucosa o xilosa liberadas cada minuto por g MS o per  $\mu$ mol PB; Actividad bacteriana) en el contenido cecal sobre la carboximetil-celulosa (CMC), xilanos, amilosa y amilopectina.

	LANDRACE		IBÉRICO		e.s.	Probabilidad		
	MZ	SB	MZ	SB		Raza	Dieta	<sup>†</sup> Interac.
<i>nmol/gMS x min</i>								
CMCasa	240	157	358	205	84,5	NS	NS	NS
Xilanasa	684	393	885	590	215	NS	NS	NS
Amilasa	561	536	891	580	138	NS	NS	NS
Amilopectinasa	212	243	348	330	122	NS	NS	NS
<i>nmol/ <math>\mu</math>mol BP x min</i>								
CMCasa	8,9	3,8	13,4	8,6	3,44	**	<i>t</i>	NS
Xilanasa	24,4	8,8	33,0	23,8	9,89	NS	NS	NS
Amilasa	13,7	10,1	33,8	19,8	3,98	**	<i>t</i>	NS
Amilopectinasa	4,3	4,1	12,6	8,9	4,09	<i>t</i>	NS	NS

\*Probabilidad; N.S.  $P > 0,10$ ; *t*  $P < 0,10$ ; \*\* $P < 0,01$

<sup>†</sup>*P* inter., *P* raza x ración

Los resultados productivos y digestivos anteriores reflejan una influencia importante de la raza sobre el valor nutritivo de la ración y en particular de sus procesos digestivos. En concreto, se observaron interacciones entre la ración y la raza que incentivan el interés por estudiar el valor nutritivo de los alimentos ingeridos por el ganado ibérico en extensivo, así como identificar los posibles factores de variación involucrados.

## 5.5 Referencias Bibliográficas

Ashwell, G. (1957) Colorimetric analysis of sugars. En: S.P. Colowick y N.O. Kaplan (Eds) *Methods in enzymology* pp: 85-86. Academic Press Inc., Nueva York.

Association of Official Analytical Chemists (1984) *Official Methods of Analysis*, 14<sup>th</sup> ed. Washington, DC: Association of Analytical Chemists.

Champ, M. (1992) Determination of resistant starch in foods and food products: interlaboratory study. *Eur. J. Clin. Nutr.*, 46, Suppl. 1: s51-s61.

FEDNA (1999) De Blas, C., P. García y G.G. Mateos. Normas para la formulación de piensos compuestos. Ed. Fundación Española para el Desarrollo de la Nutrición Animal. Universidad Politécnica de Madrid. España.

Fernández-Capo, J. (2001) Descripción del comportamiento alimentario en cuatro razas porcinas y estudio de su relación con la productividad, el gen del halotano y la jerarquía social. Tesis doctoral. Universitat Autònoma de Barcelona.

Goering, H.K. y P.J. van Soest (1970) Forage Fiber Analysis (apparatus, reagents, procedures, and some applications). *Agricultural Handbook*, 379. ARS, USDA, Washington, DC.

Jansman, A.J.M. (1993) Tannins in feedstuffs of simple stomached animals. *Nutr. Res. Rev.*, 6: 209-236.

Jouany, J.P. (1982) Volatile fatty acid and alcohol determination in digestive contents, silage juices, bacterial cultures and anaerobic fermentor contents. *Sciences des Aliments*, 2: 131-144.

López-Bote, C.J. (1998) Sustained utilization of the iberian pig breed. *Meat Sci.*, 49: S17-S27.

Makkar, H.P.S. y K. Becker. (1999) Purine quantification in digesta from ruminants by spectrophotometric and HPLC methods. *Br. J. Nutr.*, 81: 107-112.

Morales, J., J.F. Pérez, M.D. Baucells, A. Gasa y J. Gasa (2001) Comparative digestibility and productive performances between Landrace and Iberian pigs fed on a corn- or a sorghum-acorn-based diet. En: J.E. Lindberg y B. Ogle (Eds.) *Digestive Physiology in Pigs* pp: 227-229. CABI Publishing, Oxon.

Nogueira, J.C.M., M. Fondevila, A. Barrios y M. González (2000) In vitro microbial fermentation of tropical grasses at an advanced maturity stage. *Anim. Feed Sci. Tech.*, 83: 145-157.

Pond, W.G., H.G. Jung y V.H. Varel (1988) Effect of dietary fiber on young adult genetically lean, obese and contemporary pigs: body weight, carcass measurements, organ weights and digesta content. *J. Anim. Sci.*, 66: 699-706.

SAS Institute (1996) SAS<sup>®</sup>. SAS Inst. Inc., Cary, NC.

Stephen, A.M., H.S. Wiggins y J.H. Cummings (1987) Effects of changing transit time on colonic microbial metabolism in man. *Gut*, 28: 601-609.

Theander, O. (1991) Chemical analysis of lignocellulosic materials. *Anim. Feed Sci. Tech.*, 32: 35-44.

Van der Poel, A.F.B., L.M.W. Dellaert, A. van Norel y J.P.F.G. Helsper (1992) The digestibility in piglets of faba bean (*Vicia faba L.*) as affected by breeding towards the absence of condensed tannins. *Br. J. Nutr.*, 68: 793-800.

Williams, C.H., D.J. David, O. Iismaa (1962). The determination of chromic oxide in faeces samples by atomic absorption spectrophotometry. *J. Agric. Sci.*, 59: 381-385.

## **CAPÍTULO 6**

**Fermentación microbiana cecal en cerdo el Ibérico y el Landrace alimentados con dietas de bellota/sorgo o de maíz estimada in vitro usando la técnica de producción de gas**

M. FONDEVILA, J. MORALES, J.F. PÉREZ, A. BARRIOS-URDANETA and  
M.D. BAUCCELLS. 2002.

Microbial caecal fermentation in Iberic or Landrace pigs given acorn/sorghum or maize diets estimated in vitro using the gas production technique.  
Animal Feed Science and Technology. 2002. *En prensa.*

---

**ABSTRACT**

The caecal microbial fermentation in pigs from Iberic (IB) or Landrace (LD) breed fed on an acorn/sorghum (A) or a maize (M) diet was studied *in vitro* using the gas production technique. Freeze-dried ileal contents from 4 pigs (133 kg live weight) from each treatment were used as substrate and pooled caecal contents from other 2 pigs from each treatment were used as inoculum. Ileal substrates showed a higher glucose proportion in LD than in IB in both the soluble (78.5 vs. 35.6 g/kg DM;  $P < 0.001$ ) and fibrous (92.9 vs. 39.4 g/kg DM;  $P < 0.001$ ) fractions. Differences in soluble glucose were more marked with diet A (interaction breed x diet;  $P < 0.01$ ). Gas production did not differ between breeds, but diet A yielded higher gas volumes throughout the incubation period ( $P < 0.001$ ). The cross-incubation of ileal substrates and caecal contents (i.e., from different diets) within breeds showed that up to 12 h of incubation gas production in IB from substrate M/inoculum M (sM/iM) was the lowest, and from sA/iA highest ( $P < 0.05$ ). No differences were observed when crossing substrates and inocula. In LD, inoculum from diet A produced larger gas volumes than from M up to 12 h. Since gas volumes from the self-fermentation of caecal inocula differed among treatments, fermentation from the cross-incubation was also studied by subtracting the caecal contribution. There were no differences between breeds, except for a higher gas production in IB after 4 h of incubation ( $P < 0.01$ ). Within breeds, both ileal substrate and caecal inoculum from diet A promoted higher gas volumes than M at 4 and 8 h ( $P < 0.01$ ), especially in IB. The *in vitro* gas production technique may be a useful procedure to study microbial fermentation in the pig caecum, but both the composition of ileal content, largely affected by feed composition, and the contribution of self-fermentation of caecal contents, must be considered.

## 6.1. INTRODUCTION

Even though pig production is based mostly on intensive systems using high levels of concentrates, the digestive characteristics of the large intestine allow animals to utilise components that escape digestion in previous parts of the tract. The microbial fermentation occurring in the caecum/colon produces volatile fatty acids (VFA), which contribute from 10 to 30 % of maintenance energy requirements (Hume 1997). This has been the basis for the use of fibrous feeds in the more ecological, though less productive, extensive systems.

Extensive and semi-extensive production of Iberic pigs in Spain and Portugal is based on pastures and acorns as feed in the last two months before slaughter, sometimes also supplemented with concentrates to a variable extent. This system produces high-quality cured hams and other products. However, it is not apparent what is the main factor giving this level of quality: the tissue deposition of the absorbed nutrients in this breed, the chemical composition of diet, or both. In any case, whether breed or diet effects are involved can be determined by evaluation of hind gut fermentation.

*In vitro* techniques and their combination with results *in vivo* have been proven to be suitable for studying the contribution of microbial fermentation to the overall digestion in pigs (Christensen *et al.*, 1999). Measurement of the gas produced by fermentation of feeds *in vitro* (Menke and Steingass, 1988; Theodorou *et al.*, 1994) has often been applied to ruminant digestion studies to evaluate microbial fermentation, providing some additional information over *in vivo* and other *in vitro* methods (Getachew *et al.*, 1998). This technique has also been applied to non-ruminant herbivores, like horses (Lowman *et al.*, 1999) and rabbits (Calabró *et al.*, 1999), and few results are available on pigs (Ahrens *et al.*, 1991; Williams *et al.*, 1998). Most of these *in vitro* studies have been focused on the study of microbial fermentation of natural feeds. However, the situation of the caecum at the end of the digestive tract reduces the accuracy of this approach, since important digestive transformations occur on feeds before reaching the hind gut. Thus, it seems more accurate to use the material that actually arrives to the caecum as the fermentation substrate.

The current paper studied the microbial fermentation of acorn- or maize-based diets in the caecum from either Iberic or Landrace pigs, to evaluate the importance of the breed and the diet on nutrient caecal utilisation. The *in vitro* gas production technique was

applied, using ileal content as a substrate and caecal content from donor pigs as inoculum.

## 6.2. MATERIAL AND METHODS

### Animals and diets

Twenty-four finishing pigs (12 Iberic, IB, and 12 Landrace, LD; mean weight  $88.4 \pm 6.4$  kg) were housed in 6 pens (4 animals per pen) in an environmentally controlled building. Animals from each breed were randomly divided in two groups, that were offered maize or acorn-based diets (M or A) in two phases: phase 1, from 87 to 107 kg (22 to 33 days), for animal adaptation to diets, and phase 2, from 107 to 133 kg (32 to 43 days). Subsequently, pigs were slaughtered. Housing, husbandry and slaughtering conditions were in agreement with the European Union guidelines, and were approved by the Animal Protocol Review Committee of the Universitat Autònoma de Barcelona.

Diet composition is presented in Table 6.1. Within phases, diets were formulated to be isoenergetic and isonitrogenous, according to NRC (1998) recommendations. Since acorns were included partially decorticated in diet A (130 g shell/kg), a proportional amount of acorn shells were also included in diet M to equilibrate the fibrous fraction of both diets.

### Experimental procedures

Once the animals reached the target weight, 4 animals per dietary treatment were slaughtered without previous fasting, after CO<sub>2</sub> stunning. Ileal digesta were collected by gently squeezing of the last 30 cm of the small intestine. Samples were frozen and freeze-dried before used as incubation substrate, pooling contents from animals within each treatment. Three days later, another 2 animals per treatment were slaughtered and their caecal digesta were collected, pooled within treatments under anaerobic conditions and kept refrigerated during transportation to the Facultad de Veterinaria of the Universidad de Zaragoza for use as inoculum about 4 h after collection.

The microbial fermentation pattern of diets was studied by measuring the gas produced during the *in vitro* incubation of ileal samples, following the technique of Theodorou *et al.* (1994). The experiment consisted of a 2 x 2 factorial design, with pig breed and diet as factors. However, in order to discriminate whether the substrate or the inoculum are the causal factors of the diet effect, samples of ileal substrate of pigs from both breeds fed

M or A diets were also incubated in the same incubation trials with inoculum from pigs fed the other diet.

**Table 6.1** - Main ingredients and proximal chemical composition (g/kg DM) of experimental diets.

	PHASE 1		PHASE 2	
	Diet M	Diet A	Diet M	Diet A
<b>Ingredients:</b>				
Maize	749	372	737	203
Sorghum	---	275	---	200
Acorn, partly decorticated	---	125	---	400
Acorn shells	15	---	48	---
Soya bean meal	197	195	152	159
Vegetable oil	12	7	38	14
Calcium carbonate	7.4	6.8	7.0	4.4
Calcium biphosphate	6.8	7.3	5.8	7.9
Sodium chloride	2.3	2.3	2.3	2.4
Vitamin-mineral mixture	4.0	4.0	4.0	4.0
Chromium oxide	1.5	1.5	1.5	1.5
<b>Chemical composition:</b>				
Organic matter	955	953	958	954
GE, (MJ/kg DM) <sup>1</sup>	16.6	16.5	16.9	17.1
Crude protein	162	172	137	145
Ether extract	52	53	83	77
Neutral detergent fibre	142	168	179	181
Acid detergent fibre	57	71	67	89
Acid detergent lignin	14	18	20	26

<sup>1</sup>GE: Gross Energy

Approximate amounts of 650 mg sample (ileal contents of pigs fed with diets M and A for each breed) were weighed into each incubation bottle, with four bottles for each incubation treatment. Caecal contents (200 ml) of pigs given each diet were mixed 1:1 with the incubation solution under CO<sub>2</sub> atmosphere and homogenised for 2 min in a Waring Blender. Subsequently, it was filtered and mixed with more incubation solution



(pH 6.8; 39 °C), up to a final caecal content proportion of 14 % of total inoculum mixture. Bottles were filled with 100 ml of mixture, sealed with rubber caps and aluminium clamps and incubated at 39 °C. Additionally, triplicate bottles of substrate with the incubation solution but in absence of caecal contents (blanks of substrate) and of caecal inoculum without substrate (blanks of inoculum) were also included. The pressure of gas produced in each bottle was recorded by means of a HD8804 manometer with a TP 804 pressure gauge (DELTA OHM) after 4, 8, 12, 18, 24, 36, 48 and 60 hours of incubation. Readings were converted into volume by using a linear regression of pressure recorded in the same type of bottles with known air volumes. Gas volume for each incubation time was expressed per unit of incubated DM.

To estimate the pattern of microbial fermentation, the average cumulative gas production was fitted iteratively to the model proposed by France *et al.* (1993):

$$y = A \{1 - \exp[-b(t - T) - c(\sqrt{t} - \sqrt{T})]\},$$

where  $y$  represents the cumulative gas production (ml),  $t$  is incubation time (h),  $A$  is asymptote (total gas; ml),  $T$  is lag time (h) and  $b$  and  $c$  are rate constants ( $\text{h}^{-1}$  and  $\text{h}^{-1/2}$ ). The fractional degradation rate ( $\mu$ ,  $\text{h}^{-1}$ ) is considered to vary with time according to:

$$\mu = b + c / (2 \sqrt{t}); t \geq T$$

At the end of the incubation period, incubation liquid was sampled (4 ml), mixed with 1 ml solution of phosphoric acid (2 % v/v) and 4-methyl valerate (2 mg/ml) as internal standard, and stored frozen (-20 °C) before its analysis for volatile fatty acid (VFA) content.

### Chemical analysis

The DM proportion of feeds was determined by drying at 105 °C for 24 h. Organic matter (OM) of feed and ileal samples was analysed by ashing at 550 °C for 6 h. Neutral and acid detergent fibre (NDF and ADF) and acid detergent lignin (ADL) were analysed according to Van Soest *et al.* (1991). Soluble sugars were determined from water-soluble components and starch after an enzymatic attack with alpha-amylase and amyloglucosidase soluble fraction, and fibrous sugars were obtained by acid hydrolysis of the resistant fraction and analysed therefrom. Monosaccharide content of both soluble and fibrous fractions was determined by gas chromatography, following the procedure by Theander (1991), after the conversion of sugars to alditol acetates. It is assumed that soluble glucose and fibre glucose would represent starch and cellulose, respectively.

The concentration of VFA was analysed following the gas-chromatography method of Jouany (1982).

### Statistical analysis

Results were subjected to ANOVA using the STATISTIX software package (Analytical Software, 1998), analysed by time, considering the incubated bottle as experimental unit. In an initial analysis, breed and diet were considered as factors, and these and their interaction were contrasted against the residual. In addition, when substrate and inoculum for each diet were considered within each pig breed, analyses were performed studying incubated substrate and inoculum as nested factors to breed. Blanks of substrate and inoculum were also analysed by ANOVA, considering breed and diet as main factors. Treatment means were compared by the least significant difference procedure at a  $P < 0.05$ .

## **6.3. RESULTS**

Table 6.2 shows the carbohydrate composition of ileal substrates from Iberic and Landrace pigs given the acorn/sorghum or the maize diets. Proportions of glucose from both fibrous and soluble fractions, and of other soluble monosaccharides, were higher ( $P < 0.05$ ) in LD pigs, whereas proportion of rhamnose + fucose + mannose from fibre was higher in IB breed. Differences between breeds in soluble glucose were caused by the higher proportion observed in LD pigs fed on diet A (significant interaction breed x diet;  $P < 0.01$ ). There was also a dietary effect in arabinose + xylose proportion from fibre ( $P < 0.001$ ) and soluble sugars (other than glucose;  $P < 0.05$ ), being lower and higher, respectively, in diet A than in diet M.

**Table 6.2** - Carbohydrate composition (g/kg DM) of ileal substrates from Iberic and Landrace pigs given acorn (A) or maize (M) diets.

	IBERIAN		LANDRACE		s.e.m.
	Diet A	Diet M	Diet A	Diet M	
<b>Fibre-associated sugars:</b>					
Glu	50.7	28.1	93.2	92.5	8.68 <sup>1</sup>
Ara + Xyl	68.7	133.9	62.5	115.8	11.37 <sup>2</sup>
Gal	22.9	27.6	20.5	25.4	3.55
Others	15.0	13.1	17.7	18.5	1.30 <sup>1</sup>
<b>Soluble sugars:</b>					
Glu	40.3 b	30.9 b	108.2 a	48.8 b	7.30 <sup>1,2,3</sup>
Ara + Xyl + Gal + Others	9.7	4.0	37.2	8.9	7.35 <sup>1,2</sup>

s.e.m.: standard error of means

Glu: glucose; Ara: arabinose; Xyl: xylose; Gal: galactose; Others: rhamnose, fucose, mannose

<sup>1</sup> Breed effect ( $P < 0.05$ ); <sup>2</sup> Diet effect ( $P < 0.01$ ); <sup>3</sup> Interaction breed x diet ( $P < 0.01$ )

There were significant differences between breeds in the *in vitro* fermentation of ileal content using caecal inoculum only at 4 h incubation ( $P < 0.001$ ). However, diet A produced more gas than diet M throughout all the incubation period ( $P < 0.001$ ). The interaction breed x diet only tended to be significant at 4 h incubation ( $P < 0.10$ ). However, for a clear understanding of results, Figure 6.1 shows the fermentation pattern of ileal content of Iberic and Landrace pigs fed with both maize and acorn diets. The adjustment of the experimental means for each treatment to a mathematical equation for the study of the fermentation pattern is shown in Table 6.3. In both recorded gas volumes and fitted equations, the total gas production was higher with diet A than M. Although all fermentation rates decreased with time, this trend was more noticeable in pigs fed diet M than A, in agreement with the slight decrease of differences within breeds as incubation proceeds (from 17 and 13 ml gas/ g DM at 12 h for IB and LD pigs to 12 and 10 ml at 60 h, respectively). A higher coefficient A (maximum gas production) was observed for diet A, but affected by breeds (higher for Landrace than Iberic); in this case these differences are mostly caused by the mathematical weight of the other constants when fitting. In LD pigs, lag time  $T$  showed a higher value with diet M than A.

**Table 6.3** - Maximum gas production ( $A$ ; ml/g DM), lag time ( $T$ ; h), goodness of fitting ( $\chi^2$  and  $R^2$ ) and fractional gas production rates ( $\mu$ ;  $h^{-1}$ ) from curves fitted with *in vitro* gas production average results.

Breed / diet	A	T	$\chi^2$	$R^2$	$\mu_{12}$	$\mu_{24}$	$\mu_{48}$
Iberic / Acorn	163.9	1.17	11.29	0.999	0.048	0.034	0.024
Iberian / Maize	159.9	1.36	10.63	0.999	0.038	0.028	0.020
Landrace / Acorn	171.2	1.41	11.11	0.999	0.034	0.023	0.015
Landrace / Maize	164.1	1.87	23.65*	0.997	0.040	0.026	0.015

For  $\chi^2$ , significance is highlighted by \*.

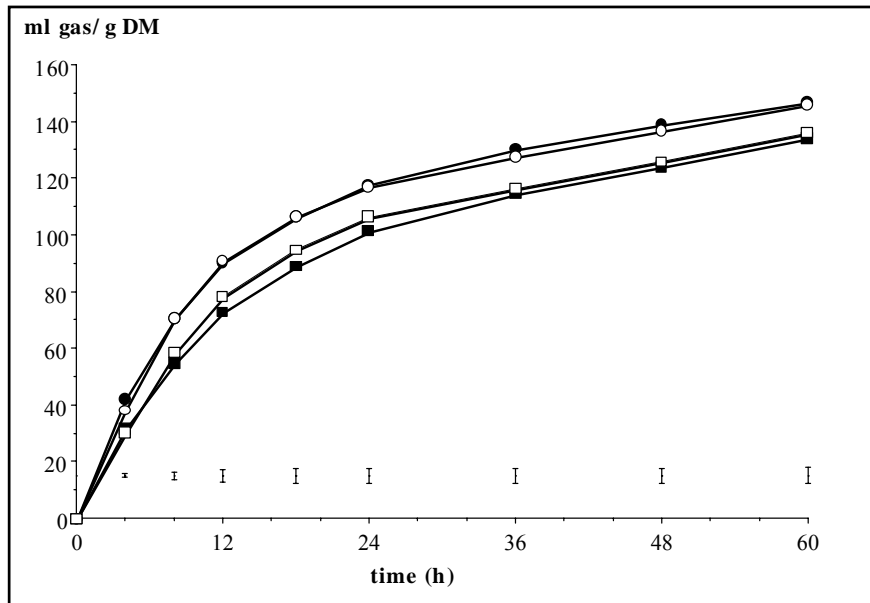
The total VFA concentration at the end of the incubation period, together with the concentrations of each VFA are presented in Table 6.4. Total VFA concentration did not differ between breeds or diets, but treatment means were significant ( $P < 0.05$ ) for the interaction, showing a higher concentration when IB pigs were fed diet M compared with A and in LD fed A compared with M. The significant interaction in acetate production ( $P < 0.01$ ) indicates that it was highest in IB/M and LD/A treatments, and lowest in IB/A. Overall propionate ( $P < 0.05$ ) and butyrate ( $P < 0.01$ ) concentrations were higher in LD than in IB pigs, and at the same time diet A produced lower propionate ( $P < 0.10$ ) and higher acetate ( $P < 0.001$ ) concentrations than diet M. The other VFA showed a higher production of isobutyrate ( $P < 0.05$ ) and isovalerate ( $P < 0.01$ ) in IB pigs, whereas valerate concentration was higher in LD than in IB pigs ( $P < 0.10$ ), and in diet M than in diet A ( $P < 0.05$ ).

**Table 6.4** - Total and individual volatile fatty acid (VFA) concentration (mmol/l) after 60 h of in vitro incubation of ileal content from Iberic and Landrace pigs given acorn (A) or maize (M) diets, using their caecal contents as inoculum.

	DIET				Analysis of Variance		
	BREED	A	M	Mean	FACTOR	SEd	P
<b>Total VFA</b>	<b>Iberic</b>	32.0	37.4	34.6	<b>Breed</b>	1.47	NS
	<b>Landrace</b>	36.9	34.1	35.5	<b>Diet</b>	1.47	NS
	<b>Mean</b>	34.4	35.7		<b>Breed x Diet</b>	2.08	0.017
<b>Acetate</b>	<b>Iberic</b>	18.5	23.6	21.0	<b>Breed</b>	0.95	NS
	<b>Landrace</b>	21.7	20.0	20.8	<b>Diet</b>	0.95	NS
	<b>Mean</b>	20.1	21.7		<b>Breed x Diet</b>	1.34	0.004
<b>Propionate</b>	<b>Iberic</b>	7.7	8.6	8.1	<b>Breed</b>	0.27	0.025
	<b>Landrace</b>	8.7	8.9	8.8	<b>Diet</b>	0.27	0.063
	<b>Mean</b>	8.2	8.7		<b>Breed x Diet</b>	0.38	NS
<b>Butyrate</b>	<b>Iberic</b>	4.2	3.3	3.7	<b>Breed</b>	0.14	0.002
	<b>Landrace</b>	5.0	3.6	4.3	<b>Diet</b>	0.14	0.000
	<b>Mean</b>	4.6	3.5		<b>Breed x Diet</b>	0.20	NS
<b>Isobutyrate</b>	<b>Iberic</b>	0.43	0.53	0.48	<b>Breed</b>	0.051	0.027
	<b>Landrace</b>	0.35	0.35	0.35	<b>Diet</b>	0.051	NS
	<b>Mean</b>	0.39	0.44		<b>Breed x Diet</b>	0.073	NS
<b>Isovalerate</b>	<b>Iberic</b>	0.69	0.77	0.73	<b>Breed</b>	0.047	0.001
	<b>Landrace</b>	0.51	0.54	0.52	<b>Diet</b>	0.047	NS
	<b>Mean</b>	0.59	0.74		<b>Breed x Diet</b>	0.066	NS
<b>Valerate</b>	<b>Iberic</b>	0.52	0.69	0.61	<b>Breed</b>	0.054	0.086
	<b>Landrace</b>	0.65	0.77	0.71	<b>Diet</b>	0.054	0.018
	<b>Mean</b>	0.58	0.73		<b>Breed x Diet</b>	0.076	NS

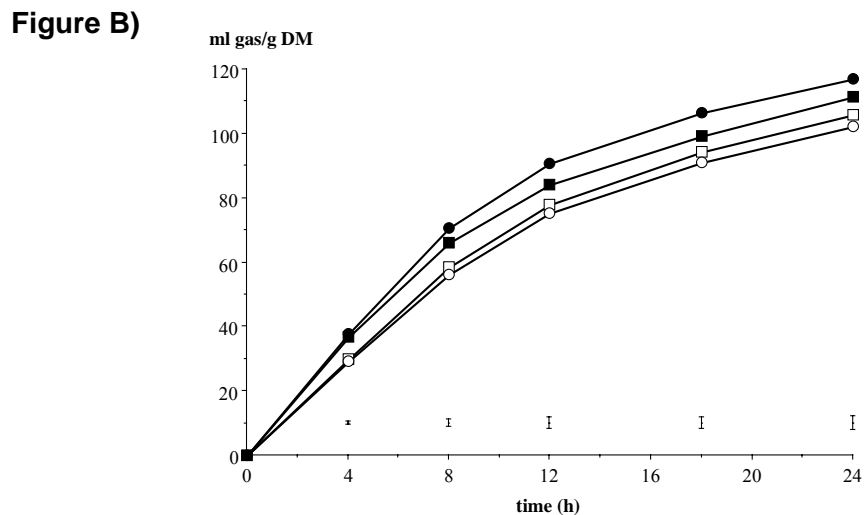
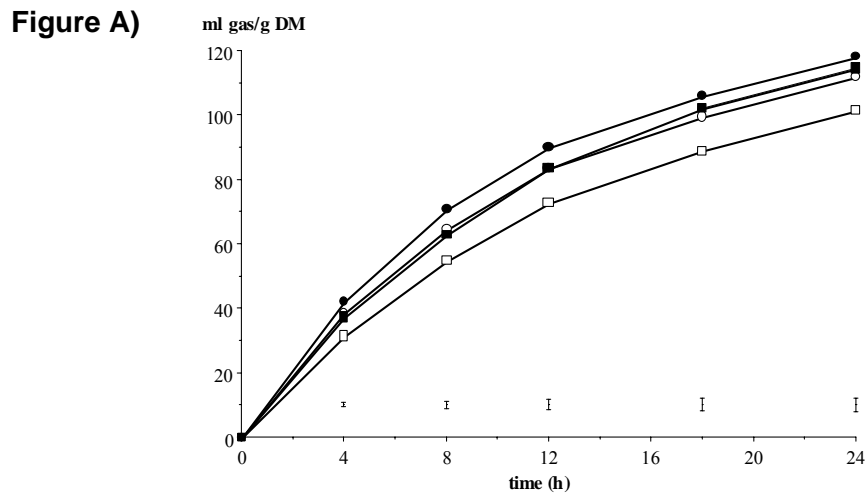
NS: P > 0.10

**Figure 6.1** - *In vitro* gas production of ileal contents from Iberic (● , ■) and Landrace (○ , □) pigs given acorn (circles) or maize (squares) diets, using their caecal contents as inoculum. For each incubation time, lower bars show standard error of means.



In order to determine at what stage in the digestion process the diet affects caecal microbial fermentation to a greater extent, the pattern of *in vitro* gas production of the cross-incubation of acorn and maize ileal substrates with maize or acorn caecal inocula for either Iberic (Figure 6.2a) or Landrace (Figure 6.2b) pigs are presented. Considering that retention time of digesta in the caecum-colon is much shorter than the total incubation time (60 h), only results from the first 24 h incubation are presented. In these figures, the pattern of gas production for both pig breeds using substrate and inoculum from diet A (sA/iA), and substrate and inoculum from diet M (sM/iM) have also been presented in Figure 6.1.

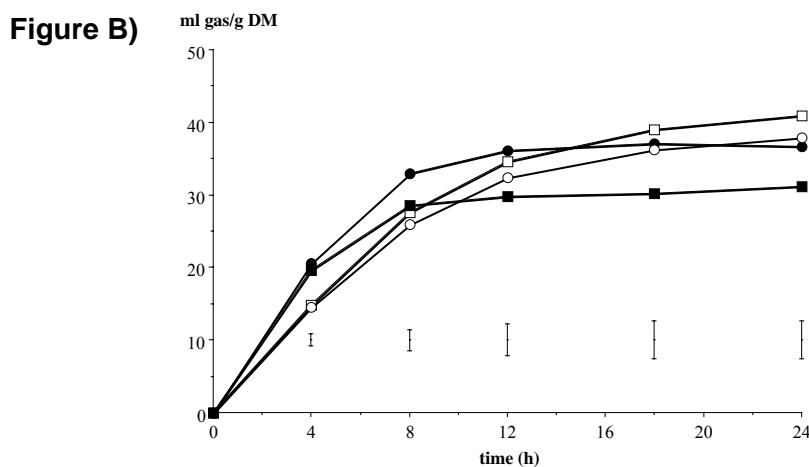
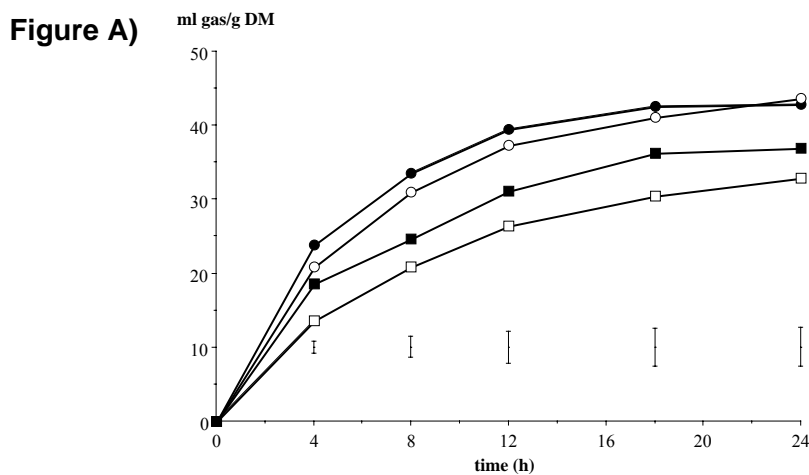
**Figure 6.2** - In vitro gas production from pig ileal contents of acorn (circles) or maize (squares) diets, with caecal contents of acorn (●, ■) or maize (○, □) diets as inoculum, using Iberic (A) or Landrace (B) pigs as donor animals. Lower bars show standard error of means.



For the IB breed, gas production from sM/iM was the lowest ( $P < 0.05$ ), but there were no clear differences between the other combinations of substrates and inocula. The combination sA/iA produced the highest gas volumes from 4 to 12 h ( $P < 0.05$ ), and it also showed higher values than sA/iM at 18 and 24 h. There were no differences between the crossed treatments (sA/iM vs. sM/iA) at any incubation time ( $P > 0.10$ ). In LD pigs (Figure 5.2b), there was a clear effect of inoculum, giving that diet A produced larger volumes of gas than diet M. Both combinations sA/iA and sM/iA produced more gas ( $P < 0.05$ ) than both substrates with inoculum M up to 12 h ( $P < 0.05$ ).

However, the comparison in this cross-incubation cannot discriminate the contribution of the self-fermentation of the inoculum itself, that was different between breeds at 4 h ( $P < 0.05$ ) and between diets throughout the control period ( $P < 0.05$  from 8 to 24 h). To avoid this bias, results from the cross incubation were corrected by subtracting the gas contribution from the blanks of inoculum, and are also presented for Iberic (Figure 6.3a) and Landrace (Figure 6.3b) pigs. Comparing pig breeds, gas production only differed at 4 h of incubation, being higher in IB than in LD ( $P < 0.01$ ). Within breeds, substrate from diet A produced more gas than that from M when incubated up to 24 h of incubation ( $P < 0.01$ ). In addition, inoculum from diet A also induced a higher volume of gas than inoculum M at 4 and 8 h of incubation ( $P < 0.01$ ).

**Figure 6.3** - Gas production from ileal contents of acorn (circles) or maize (squares) diets, with caecal contents of acorn (●, ■) or maize (○, □) diets as inoculum, using Iberic (A) or Landrace (B) pigs as donor animals, once subtracted the contribution of inoculum. Lower bars show standard error of means.





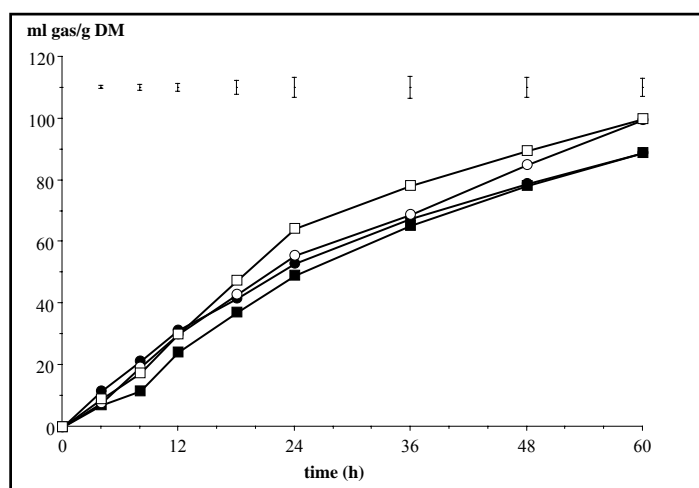
#### 6.4. DISCUSSION

*In vitro* techniques are cheaper, faster and less laborious than *in vivo* studies, and their use is beneficial for increasing knowledge of the digestive processes (Eggum and Boisen, 1991; Christensen *et al.*, 1999). For the application of the gas production technique to measurements of caecal microbial fermentation of pig diets, the characteristics that separate this process from that which occurs in the rumen have to be considered. Firstly, the digesta reaching the caecum have been notably modified in previous digestive sites, and also includes sloughed cells and endogenous secretions. Therefore, for the evaluation of microbial fermentation of pig diets, it seems more appropriate to use a substrate which actually arrives to the large intestine, rather than the non-modified diet ingredients (Ahrens *et al.*, 1991). One of the most critical points in current methodology might be the viability of caecal inoculum after being transported for about 4 h from the slaughterhouse to the laboratory. However, Dehority and Grubb (1976) showed that chilling rumen samples for 6 h in anaerobic conditions does not affect total bacterial numbers or proportions of glucose, cellobiose, xylose and starch microbial utilisation.

Testing ileal contents using the incubation solution without caecal inoculum (blank of substrate) shows an almost linear increasing pattern of gas production up to 60 h (Figure 6.4). This figure also shows differences between LD and IB pigs, not related to diet, that could be attributed to the differences in carbohydrate composition of ileal digesta (higher glucose concentration from fibrous and soluble fractions; Table 6.2). The gas can be produced both by the buffering capacity of the medium (the initial pH of ileal contents of donor pigs was between 6.1 and 6.5), and the VFA produced as a result of the action of living microbial cells and their enzymes over the ileal substrates. Bach-Knudsen *et al.* (1991) observed that microbial activity measured as ATP concentration in the distal part of the small intestine was between 0.10 and 0.35 of that in the caecum, and lactate and VFA concentrations were both around or over 20-25 mmol/l. Gas produced from ileal contents alone after 60 h incubation reached more than 85 ml/g DM, showing the importance of microbial ileal fermentation. Although absorbed VFAs contribute to the net energy balance of pigs, their beneficial effect in this site of the digestive tract is lower than if nutrients are directly absorbed, since the efficiency of energy utilisation when substrates are fermented by microbes is reduced to 0.73 (Jørgensen *et al.*, 1996). Furthermore, VFA absorption, especially butyrate, may

contribute to the development and absorptive capability of enteric mucosa (Sakata, 1989).

**Figure 4:** *In vitro* gas production of ileal contents from Iberic (● , ■ ) and Landrace (○ , □) pigs given acorn (circles) or maize (squares) diets, incubated without caecal inoculum. For each incubation time, upper bars show standard error of means.



For both breeds, it can be seen that the extent of gas production was higher with diet A throughout the fermentation period (Figure 6.1 and Table 6.3). Considering the faster rate of passage and the increased flow of digesta to the large bowel in IB pigs (Morales *et al.*, 2000), a higher magnitude of fermentation in the caecum of this breed would be expected because of the restricted time for absorption in the small intestine. However, this is not supported by the proportions of fibrous and soluble glucose in ileal substrate, higher for LD pigs mainly with diet A (Table 6.2). The lack of differences in gas production among breeds, and the existing differences among diets after the expected time for starch digestion (Figure 6.1) suggest that factors other than the chemical composition of the ileal substrate may interfere with results. In this sense, the volume of gas produced by caecal inoculum incubated without substrate was higher in diet A than M ( $P < 0.05$ ), especially in LD pigs (there was a trend for an interaction breed  $\times$  diet at 12 and 18 h;  $P < 0.10$ ). Trying to avoid this effect, the cross incubation for each breed of ileal substrates with caecal inoculum from the other diet (Figure 6.2) may give information about the digestive mechanisms responsible of the different diet response. However, comparisons have to be taken carefully, since differences in caecal contribution can appear even within breeds. To avoid this, Figure 6.3 presents the gas

production from ileal substrates only, discounting the volume produced by caecal fermentation alone, for either IB or LD pigs.

In Iberic pigs, the ileal contents from diet A were more fermented than that from diet M by both inocula, up to 12 h with inoculum A and throughout with inoculum M. The ileal contents from either diet A or M were fermented better with caecal inoculum from IB pigs fed diet A (Figure 6.3a). This indicates that the environment promoted by the acorn/sorghum diet in the caecum of this breed was more prone to fermentation than from diet M. Thus both factors (the composition of the substrate arriving to the caecum and the caecal environment itself) affected the volume of gas produced in Iberic pigs, showing the higher fermentative capability of animals fed diet A.

Bach-Knudsen *et al.* (1991) cited similar bacterial concentrations in the caecum of pigs fed an oat flour than an oat bran diet, without differences in the estimated extent of carbohydrate digestion. However, Moore *et al.* (1987) detected changes in pig faecal flora in response to high fibre diets. According to this, differences in fermentation pattern rely on the amount of substrate reaching the caecum, but may be also influenced by the type of flora in this site. In the current study, although chemical composition of diets was similar, the substrate arriving the large intestine from diet M has proportionally less starch and higher dietary fibre than that from diet A, because of the higher digestibility of maize starch compared with the more resistant structure of sorghum and acorn starches. The use of a high proportion of acorns (400 g/kg) in diet A, that also included 200 g sorghum grain /kg, probably containing detectable amounts of tannins (Cousins *et al.*, 1981) would lead to a possible anti-nutritional effect, either before or at the lower gut. Tannins may bind to proteins and carbohydrates thus reducing microbial fermentation (Lizardo *et al.*, 1995). However, there is no evidence of any restriction in the fermentation pattern of this diet.

In Landrace pigs, the differences between inocula were even clearer for both substrates in Figure 6.2b, probably indicating that diet A promotes a better environment for fermentation in the caecum than diet M. However, Figure 6.3b shows that this was only true up to 8 h; gas volume from both substrates plateaued at that time with caecal inoculum from diet A, whereas it happened at 18 h with inoculum M. Inoculum from diet A fermented more substrate from diet A than from diet M up to 18 h, but there were no differences between substrates with inoculum M at any incubation time. This suggests that digestion and absorption processes up to the ileo-caecal valve in this breed buffer

the dietary differences in the composition of the chyme, and it is the environment created in the caecum by diet A which is more responsible for the higher microbial activity at this site. Different responses observed among Iberic and Landrace could be associated with the higher enzymatic activities in caecal digesta of Iberic breed (Morales *et al.*, unpublished). However, further studies should confirm the substrate and animal specificity on the different microbial population. Apparently, comparison of caecal fermentation depending on diet and breed shows that there is not a major factor determining rate and extent of microbial action, but it is the interaction among both factors which establishes the differences.

In addition to the gas produced, the production of the different VFA, as other end-products of microbial fermentation, may help to detect differences in fermentation. Bach-Knudsen *et al.* (1991) and Christensen *et al.* (1999) did not find major differences in acetate or propionate concentrations in the large intestine between wheat flour and oat bran diets as dietary substrates, but butyrate increased with the fibre content of diet. *In vivo* studies (Mallet *et al.*, 1988; Mathers *et al.*, 1997) have provided evidence supporting the view that starch fermentation results in relatively higher molar ratios of butyrate, and van Meulen *et al.* (1997) stated that the absorption of VFAs, especially butyrate, increased with the proportion of resistant starch. In the current study (Table 6.4), both breeds supported a higher proportion of butyrate *in vitro* when fed diet A, results confirmed in caecal digesta *in vivo* (Morales *et al.*, 2000). This would enhance the absorptive capability of large intestine mucosa in animals fed diet A over diet M (Sakata 1989). Whereas there were no major differences in propionate, except for a lower concentration with IB/A treatment, Iberic pigs produced more acetate with diet M, and LD pigs with diet A. However, differences between breeds were more clearly manifested with isobutyrate and isovalerate proportions, which were higher in IB pigs. Branched chain VFAs are growth factors for many bacterial species, which use them for valine, leucine and isoleucine synthesis (Dehority, 1967), but there is no evidence of better environmental conditions for microbial fermentation in the caecum of Iberic pigs.

## **6.5. CONCLUSION**

The reported experiment is an initial approach to the study of the digestive processes in the large bowel of pigs by the *in vitro* gas production procedure. Results were largely dependent on the inocula, but also the composition of ileal substrates, which indicates the potential value of this technique to study factors affecting microbial fermentation in the

hind gut of non-ruminant animals. However, for the extrapolation of these results to *in vivo* digestibility, other digestive circumstances, like the total nutrient flux to, and the retention time in, the organ must be considered. The susceptibility of the bacterial community in the large intestine of pigs to animal dietary changes is confirmed by the *in vitro* procedure, although the relationship of these changes with the specific bacterial population characteristics deserves to be studied.

### **Acknowledgements**

This work has been financed by the CICYT Project AGF98-0506.

## 6.6. REFERENCES

Ahrens, F., Schön, J., Schmitz, M., 1991. A discontinuous *in vitro* technique for measuring hind gut fermentation in pigs. In: Digestive physiology in pigs. M.W.A. Verstegen, J. Huisman and L.A. den Hartog (eds.), EAAP Publication no. 54, Pudoc Wageningen, pp. 226-230

Analytical Software, 1998. STATISTIX for Windows. Tallahassee, FL, USA.

Bach-Knudsen, K.E., Jensen, B.B., Andersden, J.O., Hansen, I., 1991. Gastrointestinal implications in pigs of wheat and oat fractions. 2. Microbial activity in the gastrointestinal tract. British Journal of Nutrition 65: 233-248

Calabró, S., Nizza, A., Pinna, W., Cutrignelli, M.I., Piccolo, V., 1999. Estimation of digestibility of compound diets for rabbits using the *in vitro* gas production technique. World Rabbit Scienc, 74: 197-201

Cousins, B.W., Tanksley, T.D., Knabe, D.A., Zebrowska, T., 1981. Nutrient digestibility and performance of pigs fed sorghums varying in tannin concentration. Journal of Animal Science 53: 1524-1537

Dehority, B.A., 1967. Rate of isolated hemicellulose degradation and utilization by pure cultures of of rumen bacteria. Applied Microbiology, 15: 987-993

Dehority, B.A., Grubb, J.A., 1976. Effect of short-term chilling of rumen contents on viable bacterial numbers. Applied and Environmental Microbiology 39: 376-381

Eggum, B.O., Boisen, S., 1991. *In vitro* techniques of measuring digestion. In: Digestive physiology in pigs. M.W.A. Verstegen, J. Huisman and L.A. den Hartog (eds.), EAAP Publication no. 54, Pudoc Wageningen, pp. 213-225

France, J., Dhanoa, M.S., Theodorou, M.K., Lister, S.J., Davies, D.R., Isac, D., 1993. A model to interpret gas accumulation profiles associated with *in vitro* degradation of ruminant feeds. Journal of Theoretical Biology 163: 99-111

Getachew, G., Blümmel, M, Makkar, H.P.S., Becker, K., 1998. *In vitro* gas measuring techniques for assessment of nutritional quality of feeds: a review. Animal Feed Science and Technology 72: 261-281

Hume, I.D., 1997. Fermentation in the hindgut of mammals. In: Gastrointestinal microbiology, vol. 1. R.I. Mackie and B.A. White (eds.), Chapman & Hall Microbiology series, New York. pp. 84-115

Jørgensen, H., Zhao, X.Q., Eggum, B.O., 1996. The influence of dietary fibre and environmental temperature on the development of the gastrointestinal tract, digestibility, degree of fermentation in the hind-gut and energy metabolism in pigs. British Journal of Nutrition 75: 365-378

Jouany, J.P., 1982. Volatile fatty acid and alcohol determination in digestive contents, silage juices, bacterial cultures and anaerobic fermentor contents. Science des Aliments 2: 131-144

- Lizardo, R., Peiniau, J., Aumaitre, A., 1995. Effect of sorghum on performance, digestibility of dietary components and activities of pancreatic and intestinal enzymes in the weaned piglet. *Animal Feed Science and Technology* 56: 67-82
- Lowman, R.S., Theodorou, M.K., Hyslop, J.J., Dhanoa, M.S., Cuddeford, D., 1999. Evaluation of an *in vitro* batch culture technique for estimating the *in vivo* digestibility and digestible energy content of equine feeds using equine faeces as the source of microbial inoculum. *Animal Feed Science and Technology* 80: 11-27
- Mallet, A.K., Bearne, C.A., Young, P.J., Rowland, I.R., Berry, C., 1988. Influence of starches of low digestibility on the rat caecal microflora. *British Journal of Nutrition* 60: 597-604
- Mathers, J.C., Smith, H., Carter, S., 1997. Dose-response effects of raw potato starch on small-intestinal escape, large-bowel fermentation and gut transit time in the rat. *British Journal of Nutrition* 78: 1015-1029
- Menke, K.H., Steingass, H., 1988. Estimation of the energetic feed value obtained from chemical analysis and *in vitro* gas production using rumen fluid. *Animal Research and Development* 28: 1-55
- Moore, W.E.C., Moore, L.V.H., Cato, E.P., Wilkins, T.D., Kornegay, E.T., 1987. Effect of high-fiber and high-oil diets on the faecal flora of swine. *Applied and Environmental Microbiology* 53: 1638-1644
- Morales, J. Perez, J.F., Baucells, M.D., Gasa, J., 2000. Ileum and whole tract digestibility of carbohydrates contained in a corn- or a sorghum-acorn- based diet fed on finishing Landrace and Iberian pigs. *Journal of Animal Science* 78, suppl. 1:179
- Sakata, T., 1989. Stimulatory effect of short chain fatty acids on epithelial cell proliferation of isolated and denervated jejunal segment of the rat. *Scandinavian Journal of Gastroenterology* 24: 886-890
- Theander, O., 1991. Chemical analysis of lignocellulosic materials. *Animal Feed Science and Technology*, 32: 35-44
- Theodorou, M.K., Williams, B.A., Dhanoa, M.S., McAllan, A.B., France, J., 1994. A simple gas production method using a pressure transducer to determine the fermentation kinetics of ruminant feeds. *Animal Feed Science and Technology* 48: 185-197
- Van der Meulen, J., Bakker, G.C.M., Bakker, J.G.M., de Visser, H., Jongbloed, A.W., Everts, H., 1997. Effect of resistant starch on net-portal drained viscera flux of glucose, volatile fatty acids, urea and ammonia in growing pigs. *Journal of Animal Science* 75: 2697-2704
- Van Soest, P.J., Robertson, J.B., Lewis, B.A., 1991. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. *Journal of Dairy Science* 74, 3583-3597
- Williams, B.A., Voigt, C., Verstegen, M., 1998. The faecal microbial population can be representative of large intestinal microfloral activity. *Proceedings of the British Society of Animal Science* 1998, p. 165.

## CAPÍTULO 7

Contenido, composición y distribución de la grasa corporal en cerdos de acabado Landrace e Ibéricos alimentados ad libitum con dietas basadas en maíz y maíz-sorgo-bellota.

MORALES, J.; BAUCCELLS, M. D.; PÉREZ, J. F.; MOUROT, J. y GASA, J. 2002.

**Body fat content, composition and distribution in Landrace and Iberian finishing pigs fed ad libitum corn- and corn-sorghum-acorn based diets**

*Animal Science. 2002. Enviado.*

---



## **ABSTRACT**

Experiment was conducted to determine whether dietary carbohydrate source altered body fat composition and distribution in finishing lean (Landrace) and obese (Iberian) swine. Twenty-four finishing castrated male pigs (12 Iberian and 12 Landrace; 108 kg live weight) were fed two diets differing in main carbohydrates source, corn- (Diet C) or acorn-sorghum-corn (Diet A). Diets were formulated to have the same nutrient content, except for carbohydrate fractions: Diet C contained higher amount of starch (537 vs. 389 g/ kg) and lower of non-starch polysaccharides (118 vs. 148 g/ kg) than Diet A. At an average weight of 133 kg live weight pigs were slaughtered and carcass sampled to study lipogenesis and backfat and intramuscular fat composition. Iberian pigs showed a higher voluntary feed intake than Landrace pigs (3.6 vs. 2.4 kg/ day;  $P < 0.001$ ) but no significant differences in the daily weight gain. Between diets, Diet C tended to promote a higher feed intake ( $P = 0.09$ ). Iberian pigs showed higher ( $P < 0.01$ ) lipogenic enzyme activities, backfat thickness (71.7 vs. 31.9 mm) and intramuscular fat content (45 - 65%) than Landrace pigs, associated with their higher feed intake. Furthermore, fat depots from Iberian pigs had a higher ( $P < 0.001$ ) monounsaturated fatty acids (MUFA) and a lower ( $P < 0.05$ ) polyunsaturated (PUFA) proportions than from Landrace pigs. Between diets, backfat thickness from pigs fed Diet C tended to be higher ( $P = 0.07$ ) than from pigs fed Diet A, without differences in the intramuscular fat content. The higher backfat thickness in Diet C was correlated with a less PUFA proportion than in Diet A ( $P < 0.001$ ). We conclude that body fat content, composition and lipogenic enzyme activities were markedly influenced by the animal breed and to a lesser extent by the dietary characteristics.

## 7.1 INTRODUCTION

The Iberian pig is an indigenous breed from the Southwest Iberian Peninsula and the most important Mediterranean type, both in population size and in economic importance. It is characterized by early maturity, reduced lean deposition and high appetite, and is typically slaughtered at around 160 kg BW. Most of Iberian pig production is under extensive management on a Mediterranean forest territorial base: “La Dehesa”. Feed provided by “La Dehesa” consists mostly of acorns, the fruit of genus *Quercus*, and grass, which contain high amounts of fermentable fiber, resistant starch and oleic acid (Lopez-Bote, 1998).

In recent years, an increased demand for Iberian pig products, which are considered high quality products, has occurred. It is attributed to progressive consumer acceptability, generally related to the high intramuscular fat content and oleic acid (Serra et al., 1998). In contrast, intensive swine production and selection based on lean growth rate have led to a significant decrease in the intramuscular fat content of commercial breeds, even under minimal fat content (about 2%) to keep an acceptable meat quality (Karlsson et al., 1993; Mourot & Hermier, 2001). Although most of these differences are considered to be produced by genetic (Ovilo et al., 2000), diet may also have an effect (Pond et al., 1988).

Dietary factors influencing fat accretion and lipogenesis are well known. In particular, energy and carbohydrates intake have the predominant role in “de novo” fatty acid synthesis (Hudgins et al., 2000), while high-lipid diets have an inhibitory effect on endogenous lipogenesis (Allee et al., 1971). For most lipogenic enzymes, an increase in glucose metabolism is required to induce transcription (Towle et al., 1997). However, in vitro studies have evidenced that other precursors like acetate, lactate, citrate or glycerol can promote lipogenesis in pigs (Mersmann, 1986). In particular, it is remarkable the high consumption of some tissues, such as the muscles, for free fatty acids like acetate, which likely deserves a predominant role of these precursors for muscular oxidation or lipogenesis (Mittendorfer et al., 1998). From this perspective, it could be argued different dietary carbohydrates, either through diet or fermentation, could promote different responses in the lipogenesis activities. However, until now little is known about the effect of specific dietary ingredients, and in particular carbohydrates, on the lipogenesis in adipose and muscular tissues, and the intramuscular fat content. In this sense, Ramsey et al. (1990) observed differences in fat accretion, in particular in the intramuscular fat

depot, in growing pigs fed with different grain cereal source in diet (corn, whey or sorghum).

This experiment was undertaken to evaluate under intensive conditions the effects of genotype and feeding differing carbohydrate sources (corn vs. acorn-sorghum-corn based diets) on: 1. fat accretion and fatty acid profile in different fat depots (subcutaneous, intermuscular and intramuscular fats), and 2. lipogenic enzyme activities in these tissues.

A preliminary account of part of the present study has been published (Morales et al., 2002a; Morales et al., 2002b).

## 7.2 MATERIAL AND METHODS

The experiment was approved by the Animal Protocol Review Committee of the Universitat Autònoma de Barcelona. The treatment, housing, husbandry and slaughtering conditions conformed to the European Union guidelines.

### Experimental design

Twenty-four finishing castrated male pigs (12 Landrace, 12 Iberian;  $88 \pm 6.4$  kg LW) were housed in 12 pens (2 animals/ each) in an environmentally controlled building. Animals from each breed were randomly divided in two groups, which were offered corn or corn-sorghum-acorn based diets (Diet C and A, respectively) in two phases: preexperimental phase, from 88 to 108 kg, for animal adaptation to diets, and experimental phase, from 108 to 133 kg, after which they were slaughtered.

Ingredient and analyzed nutrient contents of diets are presented in Table 7.1. Within phases, diets were formulated to be isoenergetic and isonitrogenous, according to NRC (1998) recommendations.

Diet C contained mostly corn (74.2%) and diet A contained decorticated acorn (40.0%), the fruit of genus *Quercus*, sorghum (20.0%) and corn (20.7%). Carbohydrate fraction was different between diets, and diet C contained a higher total starch content than diet A (537 vs. 389 g/ kg), and a lower NSP content (118 vs. 148 g/ kg). The shell proportion of ground acorns was reduced by rough grinding (down to 13%). In order to equalised the composition of the non-carbohydrate fraction between diets, in particular oleic acid

and shells from acorn and linoleic acid from corn, olive oil and isolated shells were added to Diet C and corn oil to Diet A. Fatty acid profile of diets is presented in Table 7.2.

**Table 7.1 - Composition and nutrient content of the experimental diets**

	Preexperimental diets		Experimental diets	
	Diet C	Diet A	Diet C	Diet A
<b>Ingredients (g/kg)</b>				
Corn	753.6	376.4	741.7	206.8
Sorghum	-	275.0	-	200.0
Semidecorticated Acorn	-	125.0	-	400.0
Acorn shell	15.0	-	48.0	-
Soybean meal	197.4	194.7	151.7	159.0
Corn oil	-	7.00	-	14.0
Olive oil	12.0	-	38.0	-
CO <sub>3</sub> Ca	7.40	6.80	7.0	4.4
Dicalcium phosphate	6.80	7.30	5.8	7.9
SALT	2.30	2.30	2.3	2.4
Vitamin/mineral mix <sup>†</sup>	4.00	4.00	4.0	4.0
Chromium III oxide	1.50	1.50	1.5	1.5
<b>Nutrient analysis (g/kg DM)</b>				
Crude protein	161.9	171.9	136.6	144.6
Hemicellulose	85.6	97.0	111.3	91.8
Cellulose	42.4	52.6	47.5	63.4
Lignin	14.4	18.2	19.8	25.6
Total starch	561.0	513.4	536.5	389.1
Resistant starch	107.0	106.0	143.0	102.0
NSP <sup>‡</sup>	119.4	114.3	118.3	148.0
Crude fat	52.4	53.3	82.6	76.6
Gross energy (kcal/kg)	3973	3938	4036	4093

<sup>†</sup>Vitamin/mineral mix provided the following per kg of diet: vitamin A, 7,000 IU; vitamin D<sub>3</sub>, 1,800 IU; vitamin E, 10 mg; vitamin K<sub>3</sub>, 1 mg; vitamin B<sub>1</sub>, 1 mg; vitamin B<sub>2</sub>, 4 mg; vitamin B<sub>6</sub>, 2 mg; vitamin B<sub>12</sub>, 20 µg; biotin, 10 µg; niacin, 18 mg; Ca-d-pantothenic acid, 10 mg; choline, 175 mg. Minerals: Fe, 80 mg; Zn, 110 mg; Cu, 90 mg; Mn, 50 mg; Co, 0.1 mg; I, 1 mg; Se, 0.2 mg.

150 mg of Etoxiquin® and 500 mg de Luctamold® per kg of feed were added to both diets.

<sup>‡</sup>NSP, non-starch polysaccharides

Feed intake by pen (3 / breed x dietary treatment) and individual live weight (LW) were recorded every week and average daily weight gain (6 / breed x dietary treatment) and feed conversion ratios (3 / breed x dietary treatment) calculated.

**Table 7.2** - Fatty acid profiles (% total fat content) of the experimental diets

	Preexperimental diets		Experimental diets	
	Diet C	Diet A	Diet C	Diet A
SFA	16.48	16.27	16.26	17.26
16:0	12.77	13.11	12.48	13.76
18:0	3.09	2.63	3.14	2.98
MUFA	39.04	36.10	52.79	46.06
18:1(n-9)	36.88	34.55	50.38	44.54
PUFA	44.48	47.63	30.95	36.68
w6	42.23	45.35	29.40	34.75
18:2(n-6)	41.88	45.03	29.16	34.51
w3	2.05	2.10	1.35	1.75
18:3(n-3)	2.01	2.09	1.34	1.57
SFA/IFA <sup>†</sup>	5.07	5.14	5.15	4.79

<sup>†</sup>Saturated:Insaturated FA ratio

### Biopsy Procedures

Three samples from each pig of the subcutaneous fat were taken through biopsy before (pre-adaptation,  $88 \pm 6.4$  kg LW) and at the end of the preexperimental period ( $108 \pm 4.6$  kg LW), and a last one in the slaughtered facilities (post-experimental,  $133 \pm 5.1$  kg LW). Samples were obtained from the lumbar area at about 5 cm from the spinous process of the fourth lumbar vertebra, using a Czech gun with an adapted cannula (PPB-2 Biotech, Nitra, Slovakia). All samples were stored at  $-20^{\circ}\text{C}$  until their fatty acid (FA) profile analysis. All necessary measures were taken to prevent animal discomfort during and after all processes.

### Sampling and Carcass data

The experiment was designed to slaughter animals at 130 kg, which is between commercial weight in Landrace (100 kg) and Iberian (160 kg) pigs. Pigs were slaughtered in a commercial slaughterhouse, without previous fasting and after  $\text{CO}_2$  stunning. Backfat was measured in the midline near the 15<sup>th</sup>-16<sup>th</sup> costal area. Samples from adipose tissue (subcutaneous backfat and intermuscular fat from the neck region, ventro-medial to the *Semispinatus* muscle) and two muscles samples from the *Semimembranosus* and the *Gluteus medius* were taken in less than 30 min from slaughter and immediately frozen in liquid  $\text{N}_2$  and stored at  $-80^{\circ}\text{C}$  until analysis of lipogenic enzyme activity. For the lipid analyses, samples from 3 muscles, *Longissimus*

*dorsi*, *Gluteus medius* and *Masseter*, were taken and freeze-dried before analysis for lipid content and FA profile determinations.

### Analytical Procedures

Chemical analysis of the diets were conducted according to the Association of Official Analytical Chemists( AOAC, 1995) for dry matter (DM), ash, crude protein (CP), crude fat (CF) and tannins (quercitannic acid, %). Fat content of the muscle samples were also extracted following the Soxhlet procedure. Analysis of carbohydrate fraction of diets was obtained following the method of Theander (1991) and resistant starch following the method of Champ (1992). Both methods are widely explained previously (Morales et al., 2002b).

Lipogenic enzyme activities of subcutaneous, inter- and intramuscular adipose tissues were determined as follows: weighed quantities of adipose tissue or muscle samples were homogenised in 0.25 M sucrose buffer and centrifuged at 30,000 x g for 40 min. supernatants were analysed for Malic enzyme (ME, EC 1.1.1.40) and Glucose-6-phosphate Dehydrogenase (G6PDH, EC 1.1.1.49) using a modification (Gandemer et al., 1983) of the methods of Fitch et al. (1959), and Hsu and Lardy (1969), respectively. NADPH formation was measured at 37°C by absorbance at 340 nm. Soluble proteins in adipose tissue supernatants were determined using the bicinchoninic acid protein assay (BCA Protein Assay Kit, PIERCE, Rockford, IL). The ME and G6PDH activities were expressed as  $\mu\text{mol}$  of NADPH produced per min per gram of muscular tissue or per gram of supernatant protein from adipose tissue.

Fatty acid profiles in experimental diets (Table 7.2) and in the samples from the carcass were determined by lipid extraction (Folch et al., 1957) and methylation with 20% boron trifluoride-methanol complex in methanolic solution (Guardiola et al., 1994). The fatty acid methyl esters were separated on a GC-14A Shimadzu gas chromatograph equipped with a flame ionization detector and a capillary column (30 m x 0.53 mm i.d.) with a film thickness (0.5  $\mu\text{m}$ ) of stationary phase of 30% methyl- + 70% cyanopropyl-polysiloxane (BPX70). Helium was used as the carrier gas. Oven temperature was programmed as follows: from 75°C to 148°C at 4°C/min; from 148°C to 158°C at 2.5 °C/min; from 158°C to 240°C at 5°C/min. The other chromatographic conditions were as follows: injector and detector temperature, 280°C; head pressure, 8.7 psi; sample volume injected, 0.3  $\mu\text{L}$  for the feed and adipose tissue samples; and 0.5  $\mu\text{L}$  for the muscle samples. Fatty acids identification was made by comparison with retention time of the corresponding pure

standards. Quantification was carried out through area normalization, expressing the results as percentage of each FA relative to total fatty acids.

### Statistical Analysis

Data were analyzed by using the GLM (Generalized Linear Model) procedure of the SAS package (SAS, 1996) for a factorial arrangement of treatment. The fitted model included the breed, diet and their interaction as fixed effects. Carcass weight was initially included in the model as a covariate, except for performance parameters. However, it was not significant, thus means presented are those corresponding to omitting this factor in the model. The differences between means were determined using the Tukey test. In all cases,  $P < 0.05$  was considered significant.

## **7.3 RESULTS**

Performance of the animals during the preexperimental period were presented earlier (Morales et al., 2002a). Briefly, Iberian pigs showed higher feed intake than Landrace pigs, with no differences between diets. However, no differences were observed between treatments for the ADG in that previous period. The performance and slaughter parameters of the animals during the experimental period are summarized in Table 7.3. Iberian pigs also showed higher daily feed intake than Landrace pigs (3.6 vs. 2.4 kg/day;  $P < 0.001$ ), with no differences between breeds for the average daily gain (ADG), which tended to account for the higher ( $P = 0.09$ ) feed: gain ratios observed in Iberian (4.9) than in Landrace (3.6). Between diets, diet C promoted a higher daily feed intake ( $P = 0.07$ ) and ADG ( $P < 0.05$ ) than diet A. These differences in performance parameters between experimental treatments were larger than expected and, as a result, we were not able to reach the objective to slaughter at the same weight. Average slaughter weight was different between breeds (134.1 vs. 131.4 kg LW;  $P = 0.08$ ) and diets (136.0 vs. 129.4 kg LW;  $P < 0.001$ ), being higher for Iberian and diet C than for Landrace and diet A, respectively.

**Table 7.3** - Effect of breed and carbohydrate source in diet on growth and slaughter characteristics

	LANDRACE		IBERIAN		<i>s.e.</i>	<i>Probability</i> <sup>†</sup>	
	Diet C	Diet A	Diet C	Diet A		<i>Breed</i>	<i>Diet</i>
Initial LW (kg)	106.7	106.7	111.2	108.8	1.89	<i>t</i>	<i>N.S.</i>
Final LW (kg)	134.2	128.5	137.8	130.3	1.47	<i>t</i>	***
Daily food intake (g)	2574	2301	3739	3405	128	***	<i>t</i>
Daily LW gain (g)	740	612	936	613	72.0	<i>N.S.</i>	*
Food:gain ratio	3.48	3.81	4.00	5.75	0.565	<i>t</i>	<i>N.S.</i>
Hot carcass weight (kg)	104.8	99.6	108.4	100.3	1.35	<i>N.S.</i>	***
Killing out proportion (g/kg)	781	775	787	770	6.20	<i>N.S.</i>	<i>t</i>

<sup>†</sup>P interaction breed x diet > 0.05

The intramuscular fat content in muscle tissues (*longissimus dorsi*, *gluteus medium* and *masseter* muscles) and backfat thickness are presented in Table 7.4. *Gluteus medium* had the highest lipid content of the three muscles sampled in both diets. *Longissimus dorsi* had a higher lipid content than *masseter* in Iberian pigs, while in Landrace pigs showed a similar content. Between breeds the lipid intramuscular content was greater (P < 0.001) in Iberian than in Landrace pigs, and no differences were observed between diets. Backfat thickness differed between breeds, being higher in Iberian than in Landrace pigs (71.7 vs. 31.9 mm; P < 0.001) and tended to be higher in Diet C than in Diet A (P = 0.07).

**Table 7.4** - Effect of breed and carbohydrate source in diet on backfat thickness (mm) and intramuscular fat content (g/kg fresh muscle) of *longissimus dorsi*, *gluteus medium* and *masseter*.

	LANDRACE		IBERIAN		<i>s.e.</i>	<i>Probability</i> <sup>†</sup>	
	Diet C	Diet A	Diet C	Diet A		<i>Breed</i>	<i>Diet</i>
<b>Backfat thickness (mm)</b>	35.4	28.3	72.5	70.8	2.44	***	<i>t</i>
<i>Longissimus dorsi</i>	2.42	2.23	6.26	5.80	0.602	***	<i>N.S.</i>
<i>Gluteus medium</i>	2.98	3.07	9.43	8.21	0.740	***	<i>N.S.</i>
<b>Masseter</b>	2.32	2.34	4.07	4.31	0.404	***	<i>N.S.</i>

<sup>†</sup>P interaction breed x diet > 0.05



Lipogenic enzyme activities (Malic enzyme; ME and Glucose-6-phosphate Dehydrogenase; G6PDH) measurements in adipose (subcutaneous and intermuscular;  $\mu\text{mol NADPH min}^{-1} \text{g}^{-1}$  protein) and muscle (*semimembranosus* and *gluteus medium*;  $\mu\text{mol NADPH min}^{-1} \text{g}^{-1}$  tissue) tissues are presented in Table 7.5. G6PDH activity was much lower than ME activity in both breeds, especially in the intramuscular adipose tissues. Between breeds, lipogenic enzyme activities were higher in Iberian than in Landrace pigs, both in adipose and muscle tissues ( $P < 0.01$ ), except for enzymatic activity of intermuscular fat tissue, which was higher in Landrace than in Iberian pigs ( $P < 0.01$ ). No differences were observed between diets ( $P > 0.05$ ), except for the ME activity in subcutaneous tissue, which tended to be higher in Diet C than in diet A (5.9 vs. 4.8  $\mu\text{mol NADPH min}^{-1} \text{g}^{-1}$  protein;  $P = 0.06$ ).

**Table 7.5** - Effect of breed and carbohydrate source on the activity of malic enzyme (ME) and glucose-6-phosphate dehydrogenase (G6PDH) determined in the adipose tissue (subcutaneous and intermuscular;  $\mu\text{mol NADPH min}^{-1} \text{g}^{-1}$  protein) and muscle (*semimembranosus* and *gluteus medium*;  $\mu\text{mol NADPH min}^{-1} \text{g}^{-1}$ )

	LANDRACE		IBERIAN		<i>s.e.</i>	<i>Probability</i>		
	Diet C	Diet A	Diet C	Diet A		<i>Breed</i>	<i>Diet</i>	<i>Inter.</i>
<b>Malic Enzyme</b>								
<b>Adipose Tissue</b>								
SC	4.23	3.26	7.60	6.24	0.594	***	<i>t</i>	<i>N.S.</i>
Intermuscular	1.23	1.16	0.84	0.49	0.150	**	<i>N.S.</i>	<i>N.S.</i>
<b>Muscle</b>								
G. medium	3.38	3.10	6.42	6.44	0.647	***	<i>N.S.</i>	<i>N.S.</i>
Semimembranoso	2.89	3.73	6.69	5.48	0.424	***	<i>N.S.</i>	*
<b>G6PDH</b>								
<b>Adipose Tissue</b>								
SC	2.59	2.28	3.31	3.06	2.244	**	<i>N.S.</i>	<i>N.S.</i>
Intermuscular	0.89	0.93	0.56	0.40	0.081	***	<i>N.S.</i>	<i>N.S.</i>
<b>Muscle</b>								
G. medium	0.07	-0.01	0.87	0.80	0.241	**	<i>N.S.</i>	<i>N.S.</i>
Semimembranoso	-0.03	0.03	0.31	0.24	0.059	***	<i>N.S.</i>	<i>N.S.</i>

Table 7.6 shows the FA profile of three samples from backfat obtained along the preexperimental and the experimental periods. Differences between breeds were already observed before the preexperimental period, when animals had been fed the same diet. Backfat from Iberian pigs have a lower ( $P < 0.001$ ) proportion of saturated fatty acids (SFA) and linolenic acid ( $P < 0.05$ ) and higher proportion ( $P < 0.001$ ) of monounsaturated fatty acids (MUFA) than backfat from Landrace pigs. At the end of the experiment, Iberian and pigs fed Diet C backfat had a lower proportion of polyunsaturated fatty acids (PUFA), both in w6 and in w3 FA, than Landrace pigs ( $P < 0.05$ ) and Diet A ( $P < 0.001$ ), respectively. However, SFA and MUFA proportions were different between breeds depending experimental diet fed: Iberian pigs fed Diet A showed the lowest SFA ( $P \text{ breed} \times \text{diet} < 0.05$ ) and the highest MUFA ( $P \text{ breed} \times \text{diet} < 0.05$ ) proportions, promoting significant differences between experimental treatments. Regardless the interaction effect, MUFA proportion was markedly significant ( $P < 0.001$ ) between breeds, being higher in Iberian than Landrace pigs (52.3 vs. 50.2 %).

Table 7.7 shows the results obtained for the FA composition of intramuscular fat in *longissimus dorsi*, *gluteus medium* and *Masseter*. Saturated FA (SFA) proportion, in particular palmitic acid, was very similar in all three muscle locations and all treatments (between 33 – 38 % SFA). Monounsaturated FA (MUFA) and in particular oleic acid, were the most abundant in all three muscle locations (>47%), specially for Iberian pigs, which showed a significant MUFA and oleic acid higher proportions ( $P < 0.001$ ) than Landrace pigs. As it was previously described in the backfat depot, the intramuscular fat FA profile also tended to show an interaction breed  $\times$  diet effect in all three muscles analyzed, showing Iberian pigs fed Diet A the highest MUFA proportions ( $P < 0.10$ ). Polyunsaturated FA (PUFA) proportion was the least abundant (7 - 17%) and different between breeds. Landrace pigs showed a higher proportion ( $P < 0.001$ ) of PUFA than Iberian pigs in all three muscle locations. In particular, intramuscular fat of *Longissimus dorsi* and *Gluteus medium* of Iberian pigs showed lower proportion of PUFA than other fat locations, as *Masseter* or subcutaneous backfat. However, Landrace pigs showed a similar PUFA proportion, about 11-15%, in all fat locations. Between experimental diets, hardly there were not significant differences in the FA profile of intramuscular fat.

**Table 7.6** - Effect of breed and carbohydrate source in diet on fatty acid composition (%) and its evolution of backfat samples

	LANDRACE		IBERIAN		<i>s.e.</i>	Probability		
	Diet C	Diet A	Diet C	Diet A		Breed		
<b>Preadaptation</b>								
<b>SFA</b>	40.3	39.6	37.1	36.4	0.79	***		
16:0	26.3	26.3	23.8	23.5	0.67	***		
18:0	12.3	11.5	11.4	11.0	0.53	N.S.		
<b>MUFA</b>	48.7	49.0	52.1	52.5	0.65	***		
18:1(n-9)	43.1	42.9	45.3	45.3	0.65	**		
<b>PUFA</b>	11.0	11.5	10.7	11.0	0.41	N.S.		
W6	10.0	10.4	9.8	10.1	0.32	N.S.		
18:2(n-6)	9.3	9.7	9.0	9.3	0.30	N.S.		
W3	0.87	0.94	0.71	0.88	0.105	N.S.		
18:3(n-3)	0.70	0.75	0.54	0.64	0.053	*		
						<b>Probability</b>		
						<b>Breed</b>	<b>Diet</b>	<b>Inter.</b>
<b>Preexperimental</b>								
<b>SFA</b>	40.5	41.1	36.9	37.1	0.90	***	N.S.	N.S.
16:0	26.4	28.1	23.6	24.7	0.87	**	N.S.	N.S.
18:0	12.4	11.1	11.3	10.3	0.44	*	*	N.S.
<b>MUFA</b>	48.8	48.0	52.2	51.9	0.74	***	N.S.	N.S.
18:1(n-9)	43.5	42.2	45.1	44.6	0.68	**	N.S.	N.S.
<b>PUFA</b>	10.6	11.0	10.9	11.0	0.29	N.S.	N.S.	N.S.
W6	9.8	10.3	10.1	10.4	0.25	N.S.	N.S.	N.S.
18:2(n-6)	9.3	9.8	9.4	9.7	0.21	N.S.	<i>t</i>	N.S.
W3	0.68	0.65	0.76	0.68	0.047	N.S.	N.S.	N.S.
18:3(n-3)	0.60	0.61	0.61	0.58	0.023	N.S.	N.S.	N.S.
<b>Post-experimental</b>								
<b>SFA</b>	37.6	37.3	37.6	34.6	0.66	<i>t</i>	*	*
16:0	23.7	23.9	24.2	22.5	0.39	N.S.	<i>t</i>	*
18:0	12.1	11.6	11.4	10.2	0.44	*	<i>t</i>	N.S.
<b>MUFA</b>	50.8	49.6	51.6	53.0	0.51	***	N.S.	*
18:1(n-9)	45.3	44.3	46.2	47.1	0.54	**	N.S.	<i>t</i>
<b>PUFA</b>	11.7	13.1	10.8	12.3	0.33	*	***	N.S.
W6	10.6	12.0	10.0	11.4	0.30	<i>t</i>	***	N.S.
18:2(n-6)	9.7	11.0	9.2	10.4	0.29	<i>t</i>	***	N.S.
W3	0.79	0.89	0.66	0.79	0.022	***	***	N.S.
18:3(n-3)	0.59	0.66	0.48	0.55	0.018	***	***	N.S.

**Table 7.7** - Effect of breed and carbohydrate source in diet on fatty acid composition (%) of intramuscular fat (*longissimus dorsi*, *gluteus medium* and *masseter*)

	LANDRACE		IBERIAN		<i>s.e.</i>	Probability		
	Diet C	Diet A	Diet C	Diet A		<i>Breed</i>	<i>Diet</i>	<i>Inter.</i>
<b><i>Longissimus dorsi</i></b>								
<b>SFA</b>	37.1	37.7	36.1	35.2	1.53	N.S.	N.S.	N.S.
16:0	23.5	23.8	24.5	23.8	1.06	N.S.	N.S.	N.S.
18:0	11.3	10.8	9.3	9.0	0.60	**	N.S.	N.S.
<b>MUFA</b>	51.1	47.5	56.6	57.3	1.33	***	N.S.	<i>t</i>
18:1(n-9)	43.1	39.8	47.1	46.2	1.09	***	*	N.S.
<b>PUFA</b>	11.6	14.6	7.1	7.5	1.05	***	N.S.	N.S.
w6	10.7	13.5	6.6	6.9	1.15	***	N.S.	N.S.
18:2(n-6)	8.4	10.6	5.4	5.6	0.83	***	N.S.	N.S.
w3	0.85	1.00	0.38	0.38	0.201	**	N.S.	N.S.
18:3(n-3)	0.63	0.74	0.26	0.25	0.184	*	N.S.	N.S.
<b><i>Gluteus medium</i></b>								
<b>SFA</b>	36.6	37.1	38.6	35.0	0.94	N.S.	N.S.	*
16:0	23.7	24.2	26.2	23.9	0.63	<i>t</i>	N.S.	*
18:0	11.4	11.2	10.6	9.6	0.42	**	N.S.	N.S.
<b>MUFA</b>	50.1	48.3	53.3	55.6	1.12	***	N.S.	<i>t</i>
18:1(n-9)	43.0	41.5	44.9	46.4	0.85	***	N.S.	<i>t</i>
<b>PUFA</b>	13.4	14.6	8.2	9.4	1.09	***	N.S.	N.S.
w6	12.0	13.5	7.5	8.1	0.94	***	N.S.	N.S.
18:2(n-6)	9.8	10.9	6.4	6.9	0.72	***	N.S.	N.S.
w3	1.29	1.06	0.59	1.00	0.254	N.S.	N.S.	N.S.
18:3(n-3)	0.86	0.62	0.46	0.80	0.206	N.S.	N.S.	N.S.
<b><i>Masseter</i></b>								
<b>SFA</b>	34.6	35.2	34.3	33.4	0.84	N.S.	N.S.	N.S.
16:0	22.3	23.0	23.4	22.9	0.56	N.S.	N.S.	N.S.
18:0	10.8	10.7	9.3	9.0	0.34	***	N.S.	N.S.
<b>MUFA</b>	50.1	48.1	53.5	54.3	1.00	***	N.S.	N.S.
18:1(n-9)	42.7	40.3	43.5	44.2	0.81	**	N.S.	<i>t</i>
<b>PUFA</b>	15.3	16.8	12.2	12.3	0.95	***	N.S.	N.S.
w6	14.5	16.0	11.6	11.6	0.94	***	N.S.	N.S.
18:2(n-6)	11.1	12.5	9.3	9.3	0.72	**	N.S.	N.S.
w3	0.69	0.69	0.52	0.51	0.038	***	N.S.	N.S.
18:3(n-3)	0.38	0.39	0.32	0.30	0.013	***	N.S.	N.S.

## 7.4 DISCUSSION

### Comparisons between Iberian and Landrace pigs

Voluntary food and energy intake was significantly higher (about 30%) in Iberian than in Landrace pigs, which provides in Iberian an extra source for lipogenesis. Moreover, Iberian pigs showed a greater lipogenic enzymes activities (both in ME and in G6PDH) and higher energy depots in the backfat (71.7 vs. 31.9 mm backfat thickness;  $P < 0.001$ ) and intramuscular lipid content (in all three muscles locations;  $P < 0.001$ ) than Landrace pigs. Similar results have been observed by Serra et al. (1998), who compared these two breeds and also observed a great higher lipid content in subcutaneous and in intramuscular tissues of Iberian than Landrace pigs. At earlier ages, Freire et al. (1998) also evidenced a higher lipogenic enzyme activities in Iberian than in Large White postweaning pigs, while at higher weights comparisons between other fat and lean breeds (Large White and Meishan pigs, respectively) have also evidenced these great differences (Mourot et al., 1996).

Broad differences in voluntary and enzymatic activities between breeds suggest genetic control must be strongly implicated in this differences. Several studies about genetic mapping of quantitative trait loci (QTL) for growth and fatness in Iberian and Landrace pigs implicate individual QTL or several linked QTL in the control of backfat thickness and intramuscular fat percentage (Ovilo et al., 2000), and in fatty acid composition (Pérez-Enciso et al., 2000). In particular, a gene controlling intermediary metabolism could increase the activity of enzymes involved in the storage of energy, especially lipogenic enzymes.

In order to evaluate genetic or dietary carbohydrate influence on the FA composition of adipose and muscular tissues, we tried to offer diets with a similar content and FA composition. However, slight differences were observed on monounsaturated FA between experimental diets (Table 7.2), being higher in diet C than in diet A. Present results evidenced the influence of both, the breed and diet in the composition of saturated, monounsaturated and polyunsaturated FA. It is known that FA composition of adipose tissue is influenced by its origin. Generally, polyunsaturated fatty acids (PUFA) are directly deposited from diet, because animal is not able to synthesis them; while saturated fatty acids (SFA) are mostly obtained from synthesis *de novo* from dietary carbohydrate, and monounsaturated fatty acids (MUFA) can be obtained from these two ways. From this perspective, it has been demonstrated that there are more SFA and

less PUFA present in the fat depots of pigs with a genetic predisposition for obesity (Scott et al., 1981), or fed ad libitum (Wood, 1984), than pigs selected for reduced backfat thickness or restrictedly, respectively. Serra et al. (1998) observed a higher proportion of SFA and MUFA in the adipose tissues of Iberian pigs than of Landrace pigs. They attributed differences to the higher lipogenesis in Iberian adipose tissues. In the present experiment, backfat from Iberian pigs showed a lower proportion of PUFA and higher of MUFA, especially of oleic acid, but not of SFA. It seems that Iberian pigs have a genetic higher ability to storage or synthesise MUFA de novo.

Intramuscular fat depot follows the same pattern than backfat, but differences were no longer. Iberian pigs showed a higher MUFA and lower PUFA proportions than Landrace pigs, without differences in SFA. Differences observed in the present study between Iberian and Landrace intramuscular fat may be due to the different adiposity of each breed. Higher fat content in muscles from Iberian was promoted by a higher number and size of adipocytes, as it was previously evidenced by Etherton et al. (1982) comparing adipocyte cellularity of a lean and an obese breeds (Yorkshire and Ossabaw, respectively). Consequently, less FA are associated with membrane phospholipids and most of them are esterified to glycerol into adipocytes.

Differences in the adiposity of the intramuscular fat between breeds could explain that *Longissimus dorsi* and *Gluteus medius* intramuscular fat contents from Iberian pigs showed a lower PUFA proportion than backfat tissue, while Landrace showed similar PUFA contents in both tissues. These results are in accordance with Ruiz et al. (1998) and Fontanillas et al. (1998), who analysed fat depots of Iberian and Landrace x Duroc, respectively. It seems that the intramuscular FA content of Iberian pigs were synthesised de novo at a higher extent and were less sensitive to dietary FA deposition.

#### Comparisons between corn and acorn-sorghum-corn based diets

Different composition between diets were mainly explained by a higher amount of starch and lower amount of non-starch polysaccharides (NSP) in diet C. Starch is the storage polysaccharide of higher plants and a major source for animals. It is known that starch is mostly digested in small intestine of monogastric animals and absorbed as glucose, while NSP are mostly fermented in the large intestine. Volatile fatty acids, in particular acetate, are the main metabolites of the carbohydrate fermentation, and an additional source of energy for the animals, and can supply until 10 – 25% of digestible energy in pigs (Bergman, 1990; Yen et al., 1991). However, the efficiency of fermentation is only a

75% of energy contained in carbohydrates, because of the energy used by microflora growth (Bergman, 1990). As result of this difference and a tendency to show a higher intake, animals fed diet C disposed of a higher amount of energy than animals fed diet A. Therefore, daily live weight gain and backfat depot ( $P = 0.07$ ) were higher for animals fed diet C than diet A.

Differences between diets were associated with the higher ( $P = 0.06$ ) lipogenic enzyme activity in subcutaneous adipose tissue of animals fed diet C. Higher lipogenic enzyme activities may be due to a higher enzymes transcription, which needs glucose available to be induced (Towle et al., 1997). Glinsmann et al. (1986) evidenced in rats fed free sugars a higher fat synthesis than ones fed starch. On the other hand, diets with a higher amount of fibre may show negative effects on lipogenesis (Hudgins et al., 1998), likely as a consequence of a lower available energy or through the inhibitory effect of especific compounds such as propionate (Nishina and Freedland, 1990). However, there were not observed differences between experimental diets in either the intramuscular fat content or lipogenic enzyme activities, which implies that despite having less energy available, animals fed diet A showed the same intramuscular fat content than diet C. As it has been discussed previously, intramuscular fat was not significantly affected by quantity and substrate of available energy, and appears more dependent on other factors as genetic.

According to previous studies, profile of backfat was more affected by dietary fat than intramuscular fat (Leszczynski et al., 1992; Fontanillas et al., 1997). In the present experiment, Diet C contained a higher MUFA and a lower PUFA proportions than diet A. Experimental diets promoted differences in the FA backfat profile, depending on breed. Differences in the backfat profile were promoted by Iberian pigs fed Diet A, which showed the lowest SFA and highest MUFA proportions, in spite of the FA composition of diet A.

In conclusion, body fat and its distribution is strongly determined by genetic and at a less extent by the dietary characteristics. The high food intake ability of Iberian pigs provides them a high energy excess for de novo lipogenesis, while dietary composition and in particular the amount of glucose absorbed, may allow a higher subcutaneous fat synthesis. Moreover Iberian pigs have a higher ability to synthesise or storage MUFA, maybe due to a higher  $\Delta 9$ -desaturase activity. Intramuscular fat content appears particularly influenced by genetic factors and not by the dietary treatments. Then,

fermentable carbohydrates, which give less energy absorbed and most of it as acetate, can promote similar intramuscular fat content reducing backfat depot. These results should reinforce the interest of further studying the influence of fermentable carbohydrates in body fat distribution.



## 7.6. REFERENCES

Allee, G. L., Romsos, D. R., Leveille, G. A. and Baker, D. H. (1971) Influence of age on in vitro lipid biosynthesis and enzymatic activity in pig adipose tissue. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 137: 449-452.

Association of Official Analytical Chemists. (1995) *Official methods of analysis*. Association of Official Analytical Chemists.

Bergman, E. N. (1990) Energy contributions of volatile fatty acids from the gastrointestinal tract in various species. *Physiological reviews*, 70: 567-590.

Champ, M. (1992) Determination of resistant starch in foods and food products: interlaboratory study. *Eur. J. Clin. Nutr.*, 46, Suppl. 1: s51-s61.

Etherton, T. D., Wangsness, P. J., Hammers, V. M. and Ziegler, J. H. (1982) Effect of dietary restriction on carcass composition and adipocyte cellularity of swine with different propensities for obesity. *J. Nutr.*, 112: 2314-2323.

Fitch, W. M., Hill, R. and Chaikoff, I. L. (1959) The effect of fructose feeding on glycolytic enzyme activities of the normal rat liver. *J. Biol. Chem.*, 234: 1048-1051.

Folch, J., Lees, M. and Slaon-Stanley, G. N. (1957) A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. *J. Biol. Chem.*, 226: 497-509.

Fontanillas, R., Barroeta, A., Baucells, M. D. and Codony, R. (1997) Effect of feeding highly cis-monounsaturated, trans, or n-3 fats on lipid composition of muscle and adipose tissue of pigs. *J. Agric. Food Chem.*, 45: 3070-3075.

Freire, J. P., Mouro, J., Cunha, L. F., Almeida, J. A. and Aumaitre, A. (1998) Effect of the source of dietary fat on post-weaning lipogenesis in lean and fat genotypes of pigs. *Ann. Nutr. Metab.*, 42: 90-95.

Gandemer, G., Pascal, G. and Durand, G. (1983) Lipogenic capacity and relative contribution of the different tissues and organs to lipid synthesis in male rat. *Reprod. Nutr. Dev.*, 23: 575-588.

Glinsmann, W.H., Irausquin, H. y Park, Y.K. (1986) Evaluation of health aspects of sugars contained in carbohydrate sweeteners. *J. Nutr.*, 116 (suppl): S1-216.

Guardiola, F., Codony, R., Rafecas, M., Boatella, J. and Lopez, A. (1994) Fatty acid composition and nutritional value of fresh eggs from large- and small-scale farms. *J. Food. Compos. Anal.*, 7: 171-188.

Hsu, R. Y. and Lardy, H. A. (1969) Malic enzyme. In: Lowenstein, J. M. (Ed.) *Methods in Enzymology*. No. 17. Academic Press, New York, pp. 230-235.

Hudgins, L. C., Hellerstein, M. K., Seidman, C. E., Neese, R. A., Tremaroli, J. D. and Hirsch, J. (2000) Relationship between carbohydrate-induced hypertriglyceridemia and fatty acid synthesis in lean and obese subjects. *J. Lipid Res.*, 41: 595-604.

Hudgins, L. C., Seidman, C. E., Diakun, J. and Hirsch, J. (1998) Human fatty acid synthesis is reduced after the substitution of dietary starch for sugar. *Am. J. Clin. Nutr.*, 67: 631-639.

Karlsson, A., Enfält, A.-C., Essén-Gustavsson, B., Lundström, K., Rydhmer, L. and Stern, S. (1993) Muscle histochemical and biochemical properties in relation to meat quality during selection for increased lean tissue growth rate in pigs. *J. Anim. Sci.*, 71: 930-938.

Leszczynski, D. E., Pikul, J., Easter, R. A., McKeith, F. K., McLaren, D. G., Novakofski, J., Bechtel, P. J. and Jewell, D. E. (1992) Characterization of lipid in loin and bacon from finishing pigs fed full-fat soybeans or tallow. *J. Anim. Sci.*, 70: 2175-2181.

Lopez-Bote, C. J. (1998) Sustained utilization of the Iberian pig breed. *Meat Sci.*, 49: S17-S27.

Mersmann, H. J. (1986) Lipid metabolism in swine. In Swine in cardiovascular research. Stanton, H. C. and Mersmann, H. J. (Eds.) CRC Press, Florida, USA. Vol. 1, chapter 6: 75-103.

Mittendorfer, B., Sidossis, L. S., Walser, E., Chinkes, D. L. and Wolfe, R. R. 1998. Regional acetate kinetics and oxidation in human volunteers. *Am. J. Physiol.*, 274: E978-983.

Morales, J., Pérez, J. F., Baucells, M. D., Mourot, J. and Gasa, J. (2002a) Comparative digestibility and lipogenic activity in Landrace and Iberian finishing pigs fed ad libitum corn- and corn-sorghum-acorn based diets. *Livest. Prod. Sci.* In press.

Morales, J., Pérez, J. F., Martín-Orúe, S. M., Fondevila, M. and Gasa, J. (2002b) Large bowel fermentation of corn or sorghum-acorn diets fed as a different source of carbohydrates to Landrace and Iberian pigs. *Br. J. Nutr.* In press.

Mourot, J. and Hermier, D. (2001) Lipids in monogastric animal meat. *Reprod. Nutr. Dev.*, 41: 109-118.

Mourot, J., Kouba, M. and Bonneau, M. (1996) Comparative study of *in vitro* lipogenesis in various adipose tissues in the growing Meishan pig: comparison with the Large White pig (*Sus domesticus*). *Comp. Biochem. Physiol.* 115b: 383-388.

National Research Council (NRC). (1998) Nutrient requirements of Swine. 10<sup>th</sup> Edition. National Academy Press, Washington, D.C. USA.

Nishina, P. M. and Freedland, R. A. (1990) Effects of propionate on lipid biosynthesis in isolated rat hepatocytes. *J. Nutr.*, 120: 668-673.

Ovilo, C., Pérez-Enciso, M., Barragán, C., Clop, A., Rodríguez, C., Oliver, M. A., Toro, M. A. and Noguera, J. L. (2000) A QTL for intramuscular fat and backfat thickness is located on porcine chromosome 6. *Mammalian Genome*, 11: 344-346.

- Pérez-Enciso, M., Clop, A., Noguera, J. L., Ovilo, C., Coll, J. M., Folch, J. M., Babot, D., Estany, J., Oliver, M. A., Díaz, I. and Sánchez, A. (2000) The porcine FAT1 locus affects fatty acid metabolism: Evidence from an iberian by landrace intercross. *J. Anim. Sci.*, 78: 2525-2531.
- Pond, W. G., Jung, H. G. and Varel, V. H. (1988) Effect of dietary fiber on young adult genetically lean, obese and contemporary pigs: body weight, carcass measurements, organ weights and digesta content. *J. Anim. Sci.*, 66: 699-706.
- Ramsey, C. B., Tribble, L. F., Wu, C. and Lind, K. D. (1990) Effects of grains, marbling and sex on pork tenderness and composition. *J. Anim. Sci.*, 68: 148-154.
- Ruiz, J., Cava, R., Antequera, T., Martín, L., Ventanas, J. and López-Bote, C. J. (1998) Prediction of the feeding background of Iberian pigs using the fatty acid profile of subcutaneous, muscle and hepatic fat. *Meat Sci.*, 49: 155-163.
- Statistical Analysis Systems Institute (1996) SAS/STAT user's guide, release 6.03 edition. SAS Institute Inc., Cary, NC:
- Scott, R. A., Cornelius, S. G. and Mersmann, H. J. (1981) Fatty acid composition of adipose tissue from lean and obese swine. *J. Anim. Sci.*, 53: 977-981.
- Serra, X., Gil, F., Pérez-Enciso, M., Oliver, M. A., Vázquez, J. M., Gispert, M., Díaz, I., Moreno, F., Latorre, R. and Noguera, J. L. (1998) A comparison of carcass, meat quality and histochemical characteristics of Iberian (Guadyerbás line) and Landrace pigs. *Livest. Prod. Sci.*, 56: 215-223.
- Theander, O. (1991) Chemical analysis of lignocellulosic material. *Anim. Feed Sci. Tech.*, 32: 35-44.
- Towle, H.C., Kaytor, E.N., Shih H.M. (1997) Regulation of the expression of lipogenic enzyme genes by carbohydrate. *Annu. Rev. Nutr.*, 17: 405-433.
- Wood, J. D. (1984) Fat quality in pigmeat – U.K. In: Commission of E.C., ed. Fat quality in lean pigs. Meat Research Institute. Special Report No. 2. Brussels: 9-14.
- Yen, J. T., Nienaber, J. A., Hill, D. A. and Pond, W. G. (1991) Potential contribution of absorbed volatile fatty acids to whole-animal energy requirement in conscious swine. *J. Anim. Sci.*, 69: 2001-2012.

# **CAPÍTULO 8**

## **DISCUSIÓN GENERAL**

---

En el mercado de carne y productos derivados del cerdo, cada vez son más valorados todos aquellos aspectos que hacen referencia a la calidad. Los productos del cerdo ibérico son de los más apreciados en el mercado, por su contrastada calidad (Ventanas, 1999). Esta calidad superior se debe atribuir, entre otras características, al mayor contenido de grasa intramuscular. A pesar de la evidente influencia genética, el diferente régimen y tipo de alimentación ejercen un considerable efecto a tener en cuenta. De hecho, dentro de los productos ibéricos, son aquellos criados en condiciones extensivas en montanera los más valorados. Por todo ello se pensó en el cerdo ibérico alimentado con bellota y otras fuentes de carbohidratos poco digestibles como referencia en el presente experimento. Por otro lado, se eligió al cerdo landrace como representante del cerdo magro seleccionado genéticamente que se cría actualmente en la mayor parte de las explotaciones porcinas, y una ración basada en maíz pensando en un alimento altamente digestible y convencional, opuesto al tipo de alimento que encuentra el cerdo ibérico en montanera. Las condiciones de estabulación impuestas en el presente experimento pudieron tener un cierto efecto, ya que el ejercicio puede favorecer un depósito graso más favorable, pero éstas son necesarias para un mayor control individual de los animales.

Los resultados obtenidos en el presente trabajo permiten conocer algunas de las características digestivas y metabólicas que contribuyen a la diferenciación tan evidente entre las dos razas porcinas escogidas: el cerdo ibérico y el landrace. Para analizar con más detalle los principales resultados obtenidos, se ha dividido la discusión en cuatro apartados: los dos primeros hacen referencia a los mecanismos digestivos, tratando la diferente digestibilidad del alimento y las características de la fermentación posterior. En el tercero se valora la disponibilidad de energía, cantidad y tipo de substrato disponible, por parte del animal. Por último, en el cuarto apartado, se valora el efecto de todos estos parámetros sobre el depósito de grasa corporal.

### **8.1 Factores que influyen en el flujo de sustrato al intestino posterior**

Los efectos impuestos por la raza y el diferente origen de carbohidratos en las raciones experimentales condicionaron tanto la cantidad como la composición del sustrato que alcanzó el tracto digestivo posterior de los animales.

#### ***Con relación a su influencia cuantitativa***

##### ***- Determinación Genética: Capacidad de ingestión voluntaria***

Considerando las características de rusticidad del cerdo ibérico y su crianza en condiciones extensivas, nuestra hipótesis inicial contempló un posible mayor potencial de aprovechamiento de alimentos poco digestibles frente a las razas comerciales. Sin embargo, como se ha podido contrastar en el presente experimento, los resultados de digestibilidad parecen contradecir esta hipótesis. Una diferencia evidente entre las dos razas estudiadas fue la ingestión voluntaria de alimentos y la diferente cantidad de sustrato que alcanzaba el tracto digestivo posterior de los animales. La ingestión voluntaria de los cerdos ibéricos alcanzó valores significativamente superiores a los observados en los cerdos landrace (25 - 35%). A pesar de estas diferencias, no se observaron diferencias estadísticamente significativas entre razas en la velocidad de crecimiento, por lo que los cerdos ibéricos presentaron los peores índices de transformación del alimento.

Las diferencias en la ingestión voluntaria, no provocaron diferencias en el peso medio de todo el tracto digestivo (alrededor de unos 10 kg de peso medio a lo largo de todo el periodo experimental) ni en los pesos vacíos de los estómagos (aproximadamente unos 0,5 kg). Estos resultados sugieren la participación en la regulación de la ingestión voluntaria de mecanismos metabólicos, que resultarían prioritarios a otro tipo de restricciones o limitaciones de tipo físico, impuestas por el estómago o el intestino.

Aunque es difícil llegar a establecer cuál es la causa y cuál la consecuencia, Mears y Mendel (1974) evidenciaron una correlación positiva entre la ingestión voluntaria de alimento y el número de células adiposas. Esto sugiere una estrecha relación entre la cantidad de energía depositada en forma de grasa y el apetito manifestado por el consumo voluntario de alimento. Los resultados obtenidos en el presente trabajo han puesto de manifiesto un superior engrasamiento en todos los depósitos grasos evaluados (subcutáneo e intramuscular) por parte de los cerdos ibéricos frente a los landrace, coincidiendo con otros autores (López-Bote, 1998; Serra *et al.*, 1998). En el mismo sentido, también se ha observado en los cerdos ibéricos frente a los landrace,

una actividad superior de los enzimas que participan en la lipogénesis en el tejido adiposo y muscular; en concreto de aquellos encargados de transferir potencial reductor, como el enzima málico y la glucosa-6-fosfato deshidrogenasa. Estos resultados son coincidentes con los observados previamente por Mourot y Kouba (1996) en una línea magra (Large White) y una grasa (Meishan). Podemos afirmar, por lo tanto, a partir de los resultados presentes y previos, que las diferencias en la ingestión voluntaria de alimento entre razas y en la expresión de la lipogénesis, está determinada en última instancia por características genéticas.

Se ha descrito la contribución de la leptina como uno de los posibles mecanismos que intervienen en la regulación fisiológica de la ingestión voluntaria. La leptina es una proteína secretada por el tejido adiposo a la circulación sanguínea, que estimula la saciedad y reduce el tamaño de la ingestión sin modificar su frecuencia (Romsos, 1998). Se trataría de la principal herramienta de la teoría lipostática. Los efectos metabólicos que pueden desencadenar son variados, atribuyéndose a la leptina la capacidad de incrementar el ritmo metabólico (fundamentalmente en neonatos) y regular el porcentaje de grasa corporal (Pelleymounter *et al.*, 1995). Es posible que, diferencias entre razas en la regulación de la leptina, u otros intermediarios, o en la sensibilidad tisular a la misma, puedan intervenir en las diferencias de ingestión voluntaria observadas entre cerdos ibéricos y landrace. Apoyados en mecanismos similares, se comprende que los esfuerzos por mejorar las características magras de la canal del cerdo hayan tenido una repercusión notable en el apetito e ingestión voluntaria de los animales.

La mayor ingestión voluntaria por parte de los cerdos ibéricos promovió, a su vez, una mayor velocidad de tránsito de la digesta a través del tracto digestivo, en comparación a los cerdos landrace. Este incremento en los ritmos de tránsito digestivo se produjo fundamentalmente en el tracto digestivo posterior, como demuestra el que a pesar de no observarse diferencias en el peso del tracto digestivo total, el contenido digestivo en el intestino grueso de los cerdos ibéricos fue significativamente menor. Además de la ingestión voluntaria, otros factores pueden intervenir en la velocidad del tránsito intestinal. Pond *et al.* (1988) en la comparación de líneas genéticamente magras y obesas, evidenciaron también una aceleración en los ritmos de tránsito en los cerdos obesos. En este caso el nivel de ingestión fue restringido, por lo que las diferencias parecen impuestas de forma directa por otros mecanismos no asociados a la dimensión de la ingestión.

Aunque no disponemos de datos que lo respalden, podríamos sugerir también la posibilidad de menores tiempos de retención de la digesta en el intestino delgado de nuestros cerdos ibéricos, que estarían avalados por el flujo laminar en intestino delgado y la ausencia de diferencias en la longitud del mismo. En particular este hecho podría explicar los menores coeficientes de digestibilidad ileal observados en los cerdos ibéricos, tanto de la materia orgánica (MO) como de los carbohidratos, principalmente la fracción asociada a los polisacáridos no amiláceos (PNA). Sin embargo, no se pueden descartar diferencias interespecíficas en la capacidad de digestión enzimática en el intestino delgado, como fueron observadas en lechones por Freire *et al.* (1998).

Como consecuencia, y con independencia de la ración administrada, podemos constatar una mayor llegada de substrato al tracto digestivo posterior de los animales ibéricos, debido tanto a la mayor ingestión voluntaria de alimento como, en menor medida, a la menor digestibilidad ileal.

- Factores impuestos por las características de la ración y el origen de los carbohidratos

Los carbohidratos constituyen en su conjunto la fracción mayoritaria de todas las dietas administradas al ganado porcino, por lo que son considerados el principal substrato energético. Entre ellos, la presencia de carbohidratos resistentes a la digestión enzimática y fermentables se ha asociado a efectos negativos, tanto por su peor aprovechamiento por parte del animal, como por el riesgo de incidir sobre patologías digestivas en los animales más jóvenes (Pluske *et al.*, 1996). Sin embargo, la fermentación posterior de carbohidratos se revela como una oportunidad adicional de aprovechar los ingredientes menos digestibles. Se ha señalado que, en condiciones de estabulación, el aporte energético neto de los polisacáridos no amiláceos (PNA) puede llegar a ser el mismo que el del almidón (Schrama *et al.*, 1998). Los autores observaron que los animales con una mayor fermentación presentaban una menor actividad física y producción de calor, posiblemente asociado a una mayor saciedad y reducción del nerviosismo. Es decir, se sugiere que el cerdo pueda compensar el menor aprovechamiento energético de los PNA por fermentación, respecto al almidón absorbido en intestino delgado, con una menor actividad.

En esta última década, se ha observado un interés creciente por el estudio exhaustivo de la composición y características analíticas y funcionales de los carbohidratos, tanto



digestivas como metabólicas (Theander *et al.*, 1990; Englyst y Cummings, 1990; Bach Knudsen, 2001). Sin embargo, diferentes y complejos mecanismos interactúan *in vivo* en el aprovechamiento de los carbohidratos por el animal, haciendo difícil la obtención de técnicas analíticas *in vitro* que reproduzcan todos ellos y permitan una caracterización precisa de este grupo.

En el presente experimento, la digestibilidad ileal de la MO de la dieta sólo maíz (MZ) fue siempre superior a la de la dieta que incluía sorgo y bellota (SB). Entre otros factores, la mayor presencia de taninos en la dieta SB, principalmente asociados a la bellota decorticada (4,34 % ácido quercitánico) pudo haber influido también, a nuestro pesar, en su menor digestibilidad (Rooney y Pflugfelder, 1986).

#### **Con relación a su influencia cualitativa**

Variaciones en la composición de la ración o en la digestibilidad ileal determinan la cantidad y la composición del substrato que llega al intestino grueso. Las diferencias observadas en la digestibilidad ileal de la MO entre razas y dietas, estuvieron determinadas fundamentalmente por diferencias en la digestibilidad de los carbohidratos, componente mayoritario, y más concretamente del almidón. El almidón representa alrededor del 70 – 80% de la semilla de los cereales, una proporción importante de la mayor parte de raíces, tubérculos y bellotas, y un componente también importante en algunas leguminosas, como guisantes, habas y lentejas (FEDNA, 1999). A pesar de presentar una composición sencilla, la digestión del almidón es variable y dependiente de diferentes factores.

En el presente trabajo, la digestibilidad del almidón de la dieta MZ fue significativamente superior a la de la dieta SB; todo ello a pesar de que en el análisis *in vitro* no existían diferencias en el contenido de almidón resistente entre raciones. Las diferencias entre las estimaciones *in vitro* y los resultados *in vivo* pueden depender de factores como la intensidad de masticación (frente a la intensidad de molienda *in vitro*), el tiempo de permanencia de la digesta en el tracto orocecal, o la cantidad de almidón ingerido (Englyst *et al.*, 1992).

Entre los factores que pudieron afectar a la menor digestibilidad del almidón de la dieta SB podríamos destacar la composición y la forma física del gránulo de almidón y las interacciones entre el almidón y la matriz proteica que lo recubre (Rooney y Pflugfelder,

1986; Holm *et al.*, 1989). Así por ejemplo, es conocida la necesidad de procesar el sorgo con una mayor intensidad que el maíz, la cebada o el trigo para conseguir niveles de digestibilidad por los animales similares (McNeill *et al.*, 1975). Las diferencias parecen ser debidas en gran parte a la menor digestión de la proteína que recubre el gránulo de almidón del sorgo.

Entre razas, la menor digestibilidad ileal de la MO por parte de los cerdos ibéricos frente a los landrace, también se relacionó con una menor digestibilidad de su componente mayoritario, los carbohidratos, y en concreto del almidón. Estas diferencias también pudieron estar impuestas por un menor tiempo de permanencia de la digesta o por la concentración de masa microbiana en el intestino delgado de los cerdos landrace. Por otra parte, este resultado sugiere el variable aporte energético que puede proporcionar un componente tan importante en la ración como es el almidón, e incorpora la posibilidad de introducir variables correctoras en la valoración energética entre razas o, a falta de otros estudios, entre fases fisiológicas.

## **8.2 Características de la fermentación posterior**

La fermentación posterior permite al animal utilizar en parte muchos de los substratos que escapan a la digestión enzimática del intestino delgado. En general, la extensión de la fermentación depende de la actividad microbiana y el tiempo disponible para la degradación del substrato. En el presente experimento, los cerdos landrace pudieron compensar mediante la fermentación gran parte de las diferencias entre dietas que se observaban en la cantidad de materia orgánica y carbohidratos que alcanzaban el tracto digestivo posterior. Por el contrario, los cerdos ibéricos fueron más ineficientes, y no pudieron compensar estas diferencias, por lo que los cerdos alimentados con la ración SB presentaron los peores coeficientes de digestibilidad del tracto digestivo total. Teniendo en cuenta que la fermentación es un proceso lento (Van Soest *et al.*, 1983), la cantidad de substrato realmente fermentado en los ibéricos puede haber sido comprometida por los reducidos tiempos de retención de la digesta en tracto digestivo posterior. Resultados similares fueron citados por Varel *et al.* (1988) al comparar la digestibilidad total de la MO de líneas magras y obesas. Las líneas obesas presentaron una mayor velocidad de tránsito intestinal que las líneas magras, asociada con niveles inferiores de digestibilidad del alimento. En este sentido, y salvando las distancias, nuestros cerdos ibéricos presentaron un comportamiento de su tracto digestivo posterior similar a la estrategia digestiva que podría adoptar un équido en condiciones

de pastoreo o alimentado con un forraje de baja calidad. Los reducidos tiempos de retención en el tracto digestivo posterior posibilita alcanzar una mayor ingestión voluntaria de alimento, a pesar de comprometer la fermentación efectiva del sustrato.

- Digestibilidad fraccional a lo largo del compartimento digestivo posterior

En general, todos los carbohidratos son susceptibles de ser fermentados, pero no todos con igual facilidad (Salvador *et al.*, 1993). La degradación de las diferentes fracciones que constituyen los carbohidratos a lo largo del tracto digestivo, depende de su accesibilidad a la flora microbiana. Por lo tanto, las estructuras más simples y de mayor solubilidad (almidón, pectinas o  $\beta$ -glucanos) son las primeras en ser degradadas por fermentación y desaparecen prácticamente en su totalidad; mientras que las más insolubles y complejas (arabinosilanos, hemicelulosa y celulosa) no se degradan totalmente y aparecen en parte en las heces (Bach Knudsen y Canibe, 2000).

En el presente trabajo, la mayor parte del almidón y una proporción considerable de los PNA desapareció en intestino delgado. La desaparición de los PNA en esta porción del intestino es causada por fermentación, y su absorción en forma de ácidos grasos volátiles (AGV). Se considera que se digieren antes de alcanzar el íleon la mayor parte de los  $\beta$ -glucanos y aproximadamente el 40% de los azúcares pentosas (xilosa y arabinosa), mientras que la celulosa no se degrada en absoluto (Fadel *et al.*, 1989; Glitsø *et al.*, 1998; Bach Knudsen y Canibe, 2000).

La fermentación de los carbohidratos en intestino posterior se produjo fundamentalmente en los tramos más proximales, ciego y colon proximal. Se considera que ésta es la principal zona de fermentación, y se ha cuantificado que fermentan en esta área sobre un 90% del total los carbohidratos (Jørgensen *et al.*, 1996, Glitsø *et al.*, 1998).

La fracción que se analiza como glucosa asociada a PNA en cereales está compuesta por unos dos tercios de celulosa y el tercio restante polisacáridos no-celulósicos, principalmente  $\beta$ -glucanos (Bach Knudsen, 1997). Stephen *et al.* (1987) valoró la influencia del tiempo de tránsito de la digesta sobre la fermentación de las diferentes fracciones de carbohidratos. Para ello, modificaron el ritmo de tránsito en intestino grueso de humanos voluntarios. Observaron que la reducción del tiempo de tránsito tuvo poco efecto sobre la presencia en las heces de azúcares pentosa, pero incrementó

la cantidad de celulosa excretada. Comparando la capacidad de fermentación entre cerdos landrace e ibéricos, podemos afirmar que nuestros resultados son coincidentes con los Stephen *et al.* (1987). Los cerdos ibéricos, con un menor tiempo de tránsito, pudieron alcanzar una digestión de almidón y arabinosilanos cuantitativamente similar a los landrace, pero presentaron una mayor dificultad para digerir la celulosa con la misma intensidad.

- Parámetros de la actividad microbiana y de la fermentación

La concentración de bases púricas (BP) es un marcador microbiano comúnmente utilizado en estudios sobre el rumen (Pérez *et al.*, 1997; Makkar y Becker, 1999). La concentración de BP fue superior en ciego que en colon intermedio, lo que sugiere que la mayor parte del desarrollo microbiano se produce en ciego y primeros tramos del colon, como principal zona de fermentación o desaparición de la mayor parte del substrato. El descenso en la concentración de BP a lo largo del colon sugiere una importante autólisis de la población microbiana.

La dieta SB, que aportaba una mayor llegada de substrato al intestino grueso, proporcionó un mayor desarrollo de la flora microbiana tanto en el contenido cecal como en el del colon. Entre razas, los cerdos landrace presentaron un desarrollo microbiano superior en el ciego, mientras en el colon se observó lo contrario. Los cerdos ibéricos presentaron una mayor extensión de la fermentación hasta porciones más distales del tracto digestivo. A medida que los carbohidratos van desapareciendo por fermentación, las bacterias utilizan substratos proteicos y su propia autólisis (Reid y Hillman, 1999). El menor tiempo de retención de la digesta en los cerdos ibéricos puede significar una mayor llegada de carbohidratos a tramos posteriores, y en consecuencia una reducción de la autólisis microbiana.

La proporción entre la adenina y la guanina también fue diferente en el contenido cecal y el del colon. A su vez, se presentaron diferencias en esta proporción entre razas. Este resultado podría sugerir la existencia de diferencias en las poblaciones microbianas mayoritarias del tracto digestivo (Apajalahti *et al.*, 1998), o en su actividad celular de síntesis proteica. Los cerdos ibéricos presentaron también una mayor actividad enzimática microbiana frente a diferentes tipos de substratos de carbohidratos. Esto también refleja una selección de diferentes especies bacterianas, probablemente impuestas tanto por las diferencias en la cantidad y características del substrato fermentado como por los diferentes tiempos de permanencia de la digesta. Entre

raciones experimentales, no se observaron diferencias importantes en la proporción de adenina y guanina, ni en las actividades enzimáticas bacterianas; salvo en el segundo periodo experimental, donde la ración SB promovió una menor actividad enzimática. Parece contradictorio que la ración que proporciona una mayor cantidad de sustrato al intestino grueso, estimule un mayor crecimiento microbiano (mayor contenido en BP), y a su vez provoque un descenso de su actividad enzimática. Es posible que el mayor contenido de taninos de esta ración, capaces de formar complejos con estructuras proteicas (Jansman, 1993) pueda haber limitado la actividad de los enzimas de la flora microbiana, tanto en el análisis *in vitro*, como en el tracto digestivo del animal.

Por otro lado, la concentración de los AGV, como productos finales de la fermentación, en los diferentes tramos del tracto digestivo posterior, también presentó diferencias entre tratamientos experimentales. En general, las concentraciones más elevadas de AGV se observaron en los contenidos digestivos de los tramos más proximales, ciego y colon proximal, para disminuir hasta alcanzar los valores de menor concentración en el recto. Como era de esperar, la evolución del pH a lo largo del intestino grueso fue prácticamente opuesta, presentando los valores más bajos en colon proximal, y ascendiendo progresivamente hasta el recto. Entre razas, se observó un mayor contenido de AGV en los tramos más distales de los cerdos ibéricos, especialmente aquellos que fueron alimentados con la dieta SB, evidenciando la presencia de un mayor aporte de sustrato a este nivel. Las diferencias observadas en la intensidad de fermentación también se reflejaron en el perfil de los AGV determinados. En general los cerdos ibéricos presentaron en comparación con los landrace mayores proporciones de ácido propiónico en los tramos proximales y de acético en los distales, con independencia de la dieta ingerida. Los cerdos landrace tuvieron tendencia a tener una mayor proporción de ácido acético al recibir la dieta MZ y de ácido butírico con la dieta SB.

Varios trabajos han evidenciado que la cantidad y tipo de AGV producidos están muy correlacionados con el tipo de carbohidratos fermentados (Salvador *et al.*, 1993; Casterline *et al.*, 1997). En este sentido, van der Meulen *et al.* (1997) demostró en cerdos alimentados con diferentes cantidades de almidón resistente que una mayor disponibilidad de almidón como sustrato fermentable favorece la formación de butírico, en detrimento del acético y propiónico. Resultados similares han sido descritos por otros autores, tanto *in vitro* como en el tracto digestivo de los animales (Casterline *et al.*,

1997; Mathers *et al.*, 1997; Topping *et al.*, 1997). Salvador *et al.* (1993) sugirieron que la xilosa también promueve la formación de butirato *in vitro*.

Por otro lado, Mathers y Dawson (1991) correlacionaron datos de tiempo de tránsito de la digesta y la proporción de butírico producido en el ciego de ratas. Los autores observaron un incremento del butírico cuando descendía el tiempo de tránsito. Los resultados en cerdo ibérico del presente trabajo, con los menores tiempos de tránsito y mayores proporciones de propiónico, parecen oponerse a los encontrados por Mathers y Dawson (1991). Es probable que la presencia en ciego en cantidades importantes de otros azúcares como arabinosa y galactosa, pudieran afectar a las elevadas proporciones de propiónico encontradas en su contenido. De hecho, hay autores que han descrito una producción mayoritaria de propiónico al degradarse por fermentación azúcares pentosa (Mortensen *et al.*, 1988). Salvador *et al.* (1993) en cambio, afirman que la predicción de formación de propiónico a partir de la degradación de un determinado substrato es menos predecible que otros AGV, como acético y butírico.

Por último, la proporción de los AGV ramificados, procedentes de la degradación de algunos aminoácidos (MacFarlane *et al.*, 1986), se incrementó progresivamente desde el ciego hasta el compartimento rectal. En concreto, el aumento fue más evidente en landrace y en cerdos alimentados con la dieta MZ que en ibéricos y en cerdos de la dieta SB, respectivamente. Los AGV ramificados son un indicador de la desaparición de los carbohidratos, que se convierten en un factor limitante del crecimiento bacteriano, desviando la fermentación a la proteína (Annison y Topping, 1994).

#### - Simulación de la fermentación mediante la técnica *in vitro* de producción de gas

Las técnicas *in vitro* y su combinación con resultados *in vivo*, parecen aportar una información válida para el estudio de la contribución de la fermentación microbiana en la digestión del cerdo (Christensen *et al.*, 1999). Son técnicas rápidas y más baratas que los estudios con animales. En rumiantes, la técnica de producción de gas por fermentación de alimento *in vitro* se ha usado tradicionalmente (Menke y Steingass, 1988), evidenciando ventajas sobre métodos *in vivo* e incluso otros métodos *in vitro* (Getachew *et al.*, 1998). En la bibliografía se encuentran pocos resultados obtenidos con esta técnica de simulación de la fermentación posterior de los animales monogástricos (Ahrens *et al.*, 1991; Houdijk *et al.*, 1998; Williams *et al.*, 1998). Sin embargo, todos estos estudios han sido realizados a partir del alimento, substrato muy

diferente al que alcanza verdaderamente el intestino grueso de un monogástrico. En el presente trabajo, se estudió la capacidad de fermentación del contenido cecal de los animales, utilizando como sustrato las muestras de digesta ileal recogidas en el experimento en el momento del sacrificio.

Como hemos señalado anteriormente, la diferente digestibilidad ileal entre los diferentes tratamientos experimentales determinó diferencias de composición en los sustratos ileales. La técnica determina el potencial del sustrato para ser fermentado en el intestino grueso, por lo que estará estrechamente relacionado con su composición. En concordancia con los resultados de digestibilidad y parámetros de fermentación descritos, el sustrato ileal procedente de la dieta SB fue más fermentable y, por lo tanto, produjo una mayor cantidad de gas, que el de la dieta MZ. A su vez, el inóculo procedente de los cerdos alimentados con la dieta SB presentó una mayor capacidad para fermentar, que se acentuó cuando el sustrato procedía del mismo grupo. Por lo tanto, la dieta SB no sólo promovía la llegada a intestino grueso más fermentable, sino que facilitaba un medio en el ciego con mayor capacidad para fermentar.

Este hecho sugiere la formación de una población diferente promovida por el tipo de alimento recibido, como se ha sugerido anteriormente. En este sentido, Moore *et al.* (1987) ya detectó cambios en la flora presente en las heces de cerdos alimentados con altas cantidades de fibra. Los resultados obtenidos entre dietas con la técnica *in vitro* de producción de gas no coinciden con la actividad enzimática microbiana observada en la digesta cecal, que evidenciaba una actividad más limitada en el tracto digestivo de los cerdos alimentados con la dieta SB, pero no parece existir una explicación que lo justifique.

En el presente trabajo, también se evidenciaron diferencias evidentes entre razas en la capacidad de fermentar. En particular, los inóculos procedentes de cerdos landrace alimentados con dieta C, presentaron una menor capacidad de fermentar el sustrato añadido. Aparentemente, las diferencias entre landrace e ibéricos en la capacidad de fermentar un determinado sustrato, podrían estar relacionadas con la mayor actividad enzimática microbiana de la población presente en el ciego de los cerdos ibéricos. En este caso, estos resultados entre razas sí que coincidieron con los observados en las actividades enzimáticas de la digesta cecal, que fueron superiores en los cerdos ibéricos que en los landrace. En cualquier caso, al contrario de lo que observamos en el estudio *in vivo*, la intensidad de la fermentación *in vitro* fue afectada en mayor medida

por el alimento recibido, mientras que la raza tuvo un menor efecto. Sin embargo, es necesario señalar que la interacción entre ellos estableció las principales diferencias.

Es de destacar el diferente perfil encontrado en el gas producido a lo largo de la incubación *in vitro* con los analizados directamente del contenido cecal. Probablemente, el mayor tiempo de incubación en los estudios *in vitro* facilita la formación de una población diferente. Además, hay que recordar que los AGV determinados en la digesta cecal en el momento del sacrificio reflejan una imagen puntual, y es resultado de un balance entre AGV producidos y absorbidos.

Estas técnicas *in vitro* de producción de gas pueden aportar una información muy útil sobre el proceso de fermentación que se da en el animal. En cualquier caso, son técnicas complementarias, que difícilmente pueden aportar una información completa de lo que sucede *in vivo*.

### **8.3 Tipo y cantidad de energía disponible**

Las diferentes estrategias digestivas mostradas por los cerdos landrace e ibéricos ante las dos fuentes diferenciadas de carbohidratos, determinaron diferencias en la cantidad de energía absorbida y disponible por los animales. Por otra parte, aparentemente, las diferencias anteriores debieron determinar también diferencias en el tipo de nutriente energético absorbido. Así, los resultados obtenidos de ingestión voluntaria de alimento, así como los de digestibilidad ileal y rectal, permiten realizar una estimación de la cantidad de energía absorbida a partir de los carbohidratos del alimento en forma de glucosa en intestino delgado, o en forma de acetato tras su fermentación en el tracto digestivo posterior.

En principio, la mayor ingestión voluntaria por parte de los cerdos ibéricos determinó en ellos siempre una mayor cantidad de energía disponible. Por otro lado, la menor velocidad de tránsito digestivo en los cerdos landrace, permitió en ellos alcanzar una fermentación más eficiente en tracto digestivo posterior. Especialmente en los cerdos landrace que recibieron la ración SB, una mayor proporción de energía fue absorbida en forma de acetato.

La raza y el tipo de carbohidratos impusieron un gradiente en la cantidad de energía absorbida en forma de glucosa. En general, la cantidad de glucosa absorbida en el



intestino delgado fue significativamente superior para los cerdos ibéricos que para los landrace ( $P < 0,001$ ); y dentro de cada raza, los animales alimentados con la ración MZ dispusieron de una mayor cantidad de glucosa absorbida antes del íleon. Este efecto de la ración administrada fue más importante en la segunda fase experimental, ya que el incremento de la proporción de bellota comprometió la ingestión voluntaria de esta ración ( $P = 0,06$ ), posiblemente debido al contenido de taninos de la bellota. Como media, los cerdos landrace e ibéricos alimentados con sorgo y bellota dispusieron de 1347, 781, 1967 y 1272 g/d de glucosa que fue digerida y absorbida en intestino delgado.

Por otro lado, la cantidad de carbohidratos que desaparecían por fermentación en el tracto digestivo posterior de los animales estuvo marcada por el tiempo de retención de la digesta. Los cerdos landrace fueron capaces de fermentar con más eficiencia, por lo que la cantidad de carbohidratos que desaparecía en este tramo digestivo fue superior que en los ibéricos ( $P < 0,01$ ). Entre raciones experimentales, se fermentó una mayor cantidad de los carbohidratos que constituían la ración SB que los de la ración MZ ( $P < 0,05$ ), aunque sólo se evidenció en los cerdos landrace ( $P$  interacción  $< 0,05$ ). Los cerdos ibéricos alimentados con SB no fueron capaces de fermentar la mayor cantidad de sustrato de la que disponían. Como resultado, la cantidad de carbohidratos que desaparecían diariamente en el tracto digestivo posterior de los animales fue en cerdos landrace 98 y 224 g, y en ibéricos 83 y 88 g, alimentados con la dieta MZ y SB, respectivamente. De la energía obtenida por fermentación, entre el 25 y el 40% no se llega a absorber, ya que es utilizada para el crecimiento microbiano, producción de gas metano y pérdidas por calor (Bergman, 1990; Jensen, 2001). Además, hay que tener en cuenta que el tipo de carbohidratos del alimento promueve la producción de un perfil de AGV diferentes en cada raza. Como conclusión, asumiendo que la proporción de acetato fue similar entre tratamientos experimentales, la raza y los carbohidratos de la dieta impusieron una variación tanto en la cantidad como en el tipo de energía absorbida por parte de los animales.

#### **8.4 Características de la deposición grasa**

Tal y como se describió en la revisión bibliográfica (Capítulo 1), existe una estrecha correlación entre las características grasas de la canal y la calidad de la carne y productos derivados (Gandemer *et al.*, 1990; Cannon *et al.*, 1995; Mouro y Hermier, 2001). El objetivo del presente trabajo ha sido estudiar el efecto conjunto de dos

factores determinantes sobre la deposición grasa: la raza y la fuente de carbohidratos en el alimento.

### ***Determinación genética***

Como se ha descrito anteriormente, las diferencias en el depósito graso de la canal entre una raza grasa no seleccionada, como el cerdo ibérico, y una raza seleccionada genéticamente por su potencial de crecimiento magro, como el cerdo landrace, han sido ampliamente documentadas en la bibliografía (Freire *et al.*, 1998; Serra *et al.*, 1998). La selección por animales más magros ha implicado una disminución paralela y paulatina de la capacidad de ingestión voluntaria. Esta es la principal causa de la mayor cantidad de energía disponible por parte de los cerdos ibéricos, como se ha estimado en el apartado 8.3. Hay otros factores, seguramente correlacionados, que explican el mayor engrasamiento en los animales procedentes del tronco ibérico. Tal y como se ha descrito en el apartado 8.1, en los cerdos ibéricos la mayor actividad enzimática de los enzimas involucrados en la síntesis grasa, también contribuyó al mayor engrasamiento, tanto en sus tejidos adiposos, subcutáneo e intermuscular, como en el contenido en grasa intramuscular.

A su vez, las características y composición de los tejidos grasos también difirió entre razas. La composición de ácidos grasos (AG) del tejido adiposo depende de su origen. En general, se considera que los AG poliinsaturados (AGPI) se depositan directamente de la grasa dietética, ya que en el cerdo son esenciales, mientras que los saturados (AGS) son mayoritariamente sintetizados *de novo* a partir de los carbohidratos del alimento y, los AG monoinsaturados (AGMI) pueden proceder de ambas vías, depósito directo o síntesis *de novo*. Scott *et al.* (1981) evidenciaron una mayor presencia de AGS en los depósitos grasos de cerdos con predisposición genética a la obesidad respecto a cerdos seleccionados contra la deposición grasa. Por otro lado, Wood (1984) observó un incremento en la proporción de AGPI, relacionado con un descenso del depósito graso total, en cerdos con alimentación restringida respecto a los alimentados *ad libitum*. De forma general, podemos afirmar que un mayor depósito de grasa está generalmente asociado a un incremento en el porcentaje de grasa depositada procedente de la lipogénesis *de novo*, en comparación con el depósito directo de la grasa dietética. En el presente experimento se observó una mayor proporción de AGMI, especialmente de ácido oleico, y menor de AGPI en los tejidos grasos del cerdo ibérico respecto a los del landrace. En cambio, la proporción de AGS fueron similares en ambas razas y diferentes localizaciones anatómicas analizadas.

Es destacable la elevada presencia de ácido oleico en los tejidos grasos de los cerdos ibéricos. Otros estudios sobre las características de la grasa del cerdo ibérico también han evidenciado un resultado similar (Martin *et al.*, 1992; Cava *et al.*, 1997; Ruiz *et al.*, 1998). Este enriquecimiento se ha atribuido a las características de la grasa de la bellota, con una elevada proporción en este componente (un 62% de su grasa bruta; FEDNA, 1999). En realidad, es una de las características más valoradas en los productos ibéricos, ya que el ácido oleico proporciona un grado de insaturación óptimo para una correcta maduración del jamón, contribuyendo a su contrastada calidad final (López-Bote *et al.*, 1998). Sin embargo, en el presente estudio, ambas razas recibieron dietas similares, por lo que podemos descartar una determinación dietética. Además, el tejido graso del cerdo ibérico ya presentaba una mayor proporción de ácido oleico en el periodo preexperimental, cuando todos los animales recibían la misma dieta. Serra *et al.* (1998) también observaron una mayor proporción tanto de los AGMI como de los AGS en los tejidos grasos de los cerdos ibéricos, en comparación con los cerdos landrace. Los autores atribuyeron este mayor contenido a una mayor capacidad de lipogénesis por parte de los cerdos ibéricos. Como se ha mencionado anteriormente, nuestros cerdos ibéricos presentaron una mayor proporción de AGMI, sin observarse diferencias estadísticamente significativas en la proporción de los AGS, por lo que podríamos sugerir una predisposición genética del cerdo ibérico a depositar este ácido graso o monoinsaturar su grasa sintetizada *de novo*.

El depósito de grasa intramuscular siguió la misma tendencia que el tejido adiposo subcutáneo y el intermuscular, aunque las diferencias entre razas no llegaron a ser tan evidentes. En cualquier caso, los cerdos ibéricos siempre presentaron una mayor proporción de AGMI y menor de AGPI que los cerdos landrace. Estas diferencias parecen únicamente debidas al mayor contenido graso del tejido muscular del cerdo ibérico. El mayor contenido graso en los cerdos se ha asociado tanto con un mayor número como tamaño de sus adipocitos (Lee y Kauffman, 1974), por lo que es menor la proporción relativa de fosfolípidos de membrana, ricos en AGPI, y superior la de AG esterificados.

La deposición grasa en el cerdo ibérico presentó otra particularidad: el perfil lipídico del contenido graso intramuscular contiene una considerable menor proporción de AGPI que el tejido subcutáneo. En principio, la mayor proporción de membrana del tejido muscular debería corresponderse con una superior poliinsaturación de su grasa que la

subcutánea, tal y como sucedió en el caso del cerdo landrace. Esta característica del cerdo ibérico ya fue observada en otros trabajos consultados en la bibliografía que estudian el depósito graso del cerdo ibérico o bien de otras razas grasas no seleccionadas (Fontanillas *et al.*, 1997; Ruiz *et al.*, 1998; Isabel, 2000; Pascual, 2000), aunque ninguno de ellos analizó esta particularidad. A partir de resultados experimentales previos en nuestro laboratorio, sabemos que resulta más sencillo modificar la composición de la grasa subcutánea que la intramuscular (Fontanillas *et al.*, 1997). Por ello, el perfil graso intramuscular monoinsaturado parece una característica genética por parte del cerdo ibérico, y las razas rústicas en general.

### ***Efecto del origen de los carbohidratos del alimento***

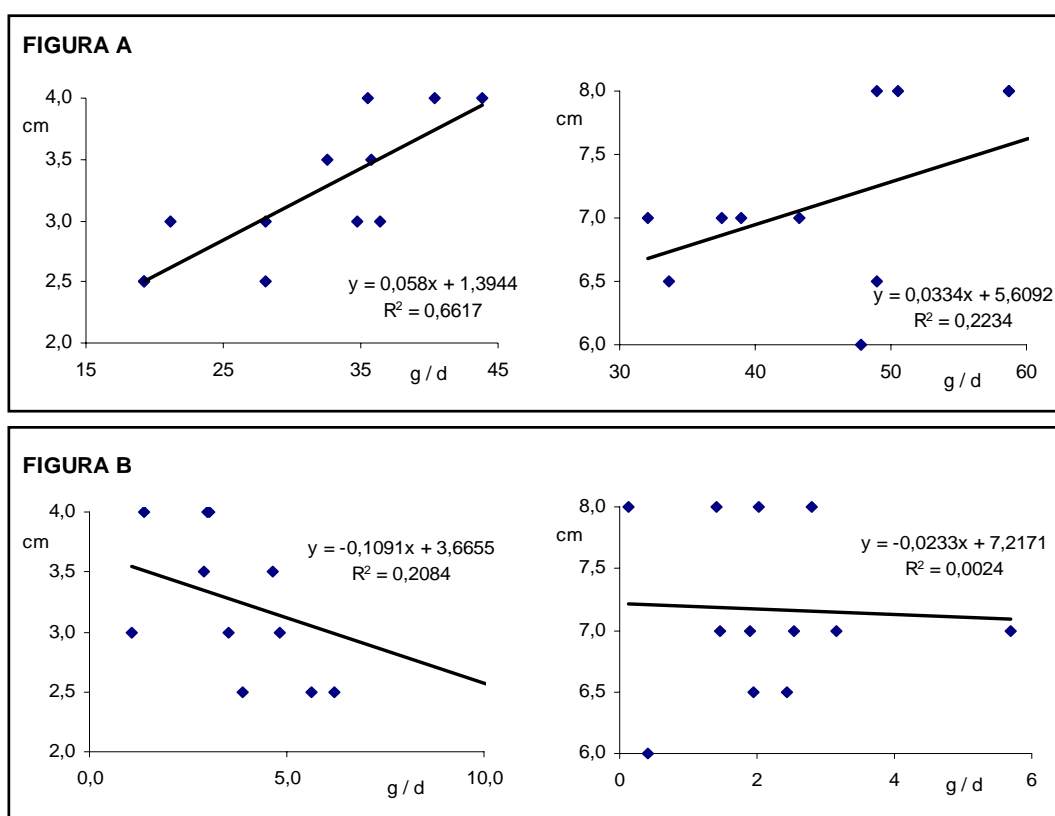
Las raciones experimentales fueron formuladas para diferir únicamente en su fuente de carbohidratos. La dieta MZ contenía una elevada cantidad de almidón digestible, mientras que la dieta SB presentaba una mayor proporción de PNA. El resultado, tal y como se ha presentado en el apartado 8.3, es una disponibilidad de la energía diferenciada por su cantidad y por el tipo de nutrientes absorbidos.

Así, se presentaron diferencias entre raciones experimentales tanto en la ingestión voluntaria de alimento como en las digestibilidades ileal y total del alimento. Como consecuencia, entre animales se observó un gradiente de cantidad de energía absorbida estimada, tanto en el intestino delgado como en el grueso. La cantidad de energía absorbida se correspondió tanto con la materia orgánica total como con cada una de sus fracciones energéticas principales, grasa bruta y carbohidratos.

Parece lógico que exista una correlación directa entre la cantidad de energía absorbida total y las diferentes determinaciones realizadas en el contenido graso. Sin embargo, la relación no se observó por igual cuando lo enfrentamos a la cantidad de sustrato absorbidos en intestino delgado o en el grueso. Como se observa en la Figura 8.1, se produjo una buena correlación entre los carbohidratos absorbidos en intestino delgado por kg de peso metabólico, principalmente en forma de glucosa, y el espesor de la grasa subcutánea dorsal. Esta correlación fue mejor en el caso de los cerdos landrace que en los ibéricos, seguramente debido a la mayor uniformidad genética de esta raza seleccionada y a la limitación que presentan los cerdos landrace en la ingestión voluntaria de alimento. En concreto, los menores márgenes de energía que disponen los cerdos landrace para su síntesis de grasa, determinan que cualquier variación en su energía disponible provoque variaciones porcentuales mayores en sus depósitos de

reserva. Por otro lado, tal y como se refleja en la figura, no se observó una correlación consistente entre la energía absorbida en intestino grueso, en forma de acetato, y el espesor de grasa dorsal. Probablemente, la energía disponible en forma de acetato no presentó un rango tan amplio como la disponible en forma de glucosa, o su utilización metabólica no fue prioritaria en la lipogénesis subcutánea. De hecho, se ha señalado una utilización oxidativa del acetato absorbido de entre un 28 y un 45%, calculado en cerdos de 60 kg sin y con ayuno de 12 - 24 h, respectivamente, determinado mediante la utilización de isótopos estables (Danfaer, 1999).

**Figura 8.1** – Correlación entre el espesor de grasa subcutánea dorsal (cm) y la cantidad de carbohidratos absorbidos ( $\text{g} / \text{día} / \text{kg}^{0,75}$ ) en intestino delgado (Fig. A) o en intestino grueso (Fig. B) por peso metabólico de cerdos landrace (Figuras izquierda) y cerdos ibéricos (Figuras derecha).



Las características del alimento provocaron diferencias en el perfil de AG de la grasa dorsal subcutánea. Los animales alimentados con la ración MZ presentaron una mayor proporción de AG saturados y menor de AG poliinsaturados que los alimentados con la ración SB, indicando una mayor proporción de grasa procedente de la síntesis de novo

a partir de los carbohidratos y un menor depósito de los AG dietéticos. Estos resultados son acordes con los encontrados recientemente por Hudgins *et al.* (2000), quien atribuyó a la fibra un efecto negativo sobre la lipogénesis.

A diferencia del espesor de la grasa dorsal, no se observaron diferencias entre raciones experimentales en el contenido de grasa intramuscular del *Longissimus dorsi*, glúteo medio y masetero. Por lo tanto, a pesar de la menor disponibilidad de energía, los animales alimentados con la dieta SB fueron capaces de presentar los mismos niveles de grasa intramuscular que los alimentados con la dieta M. Aparentemente, en los pesos de sacrificio estudiados en el presente trabajo, la cantidad de grasa intramuscular no parece ser tan dependiente de la cantidad y tipo de substrato disponible, y parece más afectada por otros factores, como la genética.

Como conclusión, la cantidad de grasa corporal y su distribución están altamente determinadas por la genética. En el caso de los cerdos ibéricos, tanto su elevado apetito como la actividad de sus enzimas lipogénicas, fundamentalmente en el tejido muscular, condicionan su elevado contenido graso. Por otro lado, el tipo de carbohidratos de la dieta, como principales precursores energéticos de la síntesis de grasa, ejerce un cierto efecto sobre la grasa subcutánea. Carbohidratos muy digestibles, que proporcionan una mayor cantidad de energía en forma de glucosa, permiten una mayor síntesis de grasa subcutánea, sin afectar a la grasa intramuscular. Sin embargo, los presentes resultados experimentales no proporcionan evidencias de que el tipo de nutrientes absorbidos puedan ejercer un estímulo positivo o negativo sobre el depósito de grasa intramuscular.

Por el contrario, los animales que consumían la dieta con carbohidratos más fermentables sí que fueron capaces de mantener una misma cantidad de grasa intramuscular reduciendo el depósito de grasa dorsal, por lo que este tipo de carbohidratos promueven una redistribución de la grasa corporal. Sería interesante poder confirmar este efecto, para su valoración por parte de la industria cárnica de cara a implantar una posible mejora de la calidad tanto de la carne de cerdo como de sus productos derivados.

# **CAPÍTULO 9**

## **CONCLUSIONES**

---

## CONCLUSIONES

De los resultados expuestos en la presente tesis doctoral, se pueden extraer las siguientes conclusiones:

1. Los cerdos ibéricos presentan una ingestión voluntaria de alimento superior a los landrace, en el presente experimento entre 25 – 35%. Como consecuencia de estas diferencias, o por características intrínsecas a la raza, los cerdos ibéricos presentan un menor tiempo de retención de la digesta, y una menor digestibilidad del alimento tanto en íleon como en recto, fundamentalmente por la fracción de carbohidratos.
2. Entre raciones experimentales, la ración constituida por sorgo y bellota presenta una menor digestibilidad aparente de la materia orgánica, tanto en íleon como en recto. Las diferencias son más notables en el cerdo ibérico, que mostró menor capacidad de fermentar los carbohidratos de la pared vegetal, y por lo tanto de compensar las diferencias impuestas por la ración a nivel ileal.
3. Diferencias entre razas y en el pienso administrado generan variaciones en la expansión y actividad de la microflora del tracto digestivo posterior. Los cerdos landrace presentan, respecto a los ibéricos, una cantidad de microorganismos superior en ciego e inferior en colon; aunque la actividad enzimática microbiana en su contenido cecal fue inferior.
4. La ración de sorgo y bellota respecto a la de maíz estimula una mayor proliferación microbiana en el tracto digestivo. Sin embargo, el estudio de la actividad enzimática de la flora microbiana llevó a resultados contradictorios entre los métodos *in vivo* e *in vitro*.
5. Las diferencias observadas entre razas y raciones experimentales en la ingestión y digestión del alimento determinan una mayor absorción de energía en los ibéricos que en los landrace. Entre raciones la mayor proporción de energía absorbida fue en forma de ácidos grasos volátiles con la ración de sorgo y bellota, fundamentalmente en los landrace.
6. Los cerdos ibéricos presentan un contenido graso superior que los cerdos landrace, tanto subcutáneo como intramuscular, independientemente de la ración. Este mayor



engrasamiento está estrechamente relacionado con una superior actividad lipogénica, tanto del enzima málico como de la glucosa-6-fosfato deshidrogenasa.

7. Los diferentes depósitos grasos del cerdo ibérico presentan en comparación al landrace una mayor proporción de ácidos grasos monoinsaturados (AGMI) y menor de poliinsaturados (AGPI).
8. En las condiciones experimentales actuales, la ración de sorgo y bellota no modifica el contenido ni el perfil de grasa intramuscular, pero promueve un contenido de grasa dorsal inferior que la ración de maíz, asociado a un perfil más insaturado.

## **CAPÍTULO 10**

### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

---

- Aherne, F., Hays, V.W., Ewan, R.C. and Speer, V.C. (1969). Absorption and utilization of sugars by the baby pigs. *Journal of Animal Science*, 29:444-450.
- Ahrens, F., Schön, J. y Schmitz, M. (1991) A discontinuous in vitro technique for measuring hind gut fermentation in pigs. In: *Digestive physiology in pigs*. M.W.A. Verstegen, J. Huisman and L.A. den Hartog (eds.), EAAP Publication no. 54, Pudoc Wageningen, pp. 226-230
- Alle, G.L., Romsos, D., Leveille, G.A. y Baker, D.H. (1971) Influence of age on in vitro lipid biosynthesis and enzymatic activity in pig adipose tissue. *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine*, 137: 449-452.
- Åman, P. y Graham, H. (1990) Chemical evaluation of polysaccharides in animal feeds. En: *Feedstuff evaluation*. J. Wiseman y D.J.A. Cole (Eds.) Butterworths, Londres. pp. 161-177
- Åman, P. y Westerlund (1996) Cell wall polysaccharides: Structural, chemical and analytical aspects. En: *Carbohydrates in Food*; A.C. Eliasson, Ed.; Dekker: New York; pp 191-226.
- Åman, P., Graham, H. y Tilly, A.C. (1989) Content and solubility of mixed-link (1-3), (1-4) beta-D-glucan in barley and oats during kernel development and storage. *Journal of Cereal Science*, 10: 45-50.
- Anderson, D.B. y Kauffman, R.G. (1973) Cellular and enzymatic changes in porcine adipose tissue during growth. *Journal of Lipid Research*, 14: 160-168.
- Anderson, D.B., Kauffman, R.G. y Kastenschmidt, L.L. (1972) Lipogenic enzyme activities and cellularity of porcine adipose tissue from various anatomical locations. *Journal of Lipid Research*, 13: 593-599.
- Andersson, L., Haley, C.S., Ellegren, H., Knott, S.A., Johansson, M., Andersson, K., Andersson-Eklund, L., Edfors-Lilja, I., Fredholm, M., Hansson, I., Hakansson, J y Lundström, K. (1994) Genetic mapping of quantitative trait loci for growth and fatness in pigs. *Science*, 263: 1771-1774.
- Annison, G. y Topping, D.L. (1994) Nutritional role of resistant starch: chemical structure vs physiological function. *Annual Review of Nutrition*, 14: 297-320.
- Apajalahti, J.H.A., Särkilahti, L.K., Mäki, B.R.E., Heikkinen, J.P., Nurminen, P.H. y Holben, W.E. (1998) Effective recovery of bacterial DNA and percent-guanine-plus-cytosine-based analysis of community structure in the gastrointestinal tract of broiler chickens. *Applied and Environmental Microbiology*, 64: 4084-4088.
- Aparicio-Macarro, J.B. (1970) Ceba de cerdo ibérico V. Ganancia en peso vivo de esta raza y del cruce Duroc-Jersey x Ibérico en régimen de pastoreo. Influencia del aporte proteico en la deposición de grasa y rendimiento cárnico en ibérico. *Archivos de Zootecnia*, 19: 259-276.
- Asp, N.-G., Schweizer, T.F., Southgate, D.A.T. y Theander, O. (1992) Dietary fibre analysis. En: T.F. Schweizer y C.A. Edwards (editores) *Classification of carbohydrates in food as related to dietary analysis, Dietary fiber a component of food. Nutritional function in health and disease*. Springer Verlage, Londres, pp: 57-101.

- Astrup, A. y Raben, A. (1996) Mono- and Disaccharides: nutritional aspects. En: *Carbohydrates in food*. A.C. Eliasson (Ed.) Marcel Dekker, New York, EEUU, pp: 505-554.
- Bach Knudsen, K.E. (1997) Carbohydrate and lignin contents of plant materials used in animal feeding. *Animal Feed Science and Technology*, 67: 319-338.
- Bach Knudsen, K.E. (2001) The nutritional significance of "dietary fibre" analysis. *Animal Feed Science and Technology*, 90: 3-20.
- Bach Knudsen, K.E. y Canibe, N. (2000) Breakdown of plant carbohydrates in the digestive tract of pigs fed on wheat- or oat-based rolls. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 80: 1253-1261.
- Bach Knudsen, K.E. y Li, B. (1991) Determination of oligosaccharides in protein-rich feedstuffs by gas-liquid chromatography and high-performance liquid chromatography. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 39: 689-694.
- Bach Knudsen, K.E., Jensen, B.B. y Hansen, I. (1993) Oat bran but not  $\alpha$ -glucan-enriched oat fraction enhances butyrate production in the large intestine of pigs. *Journal of Nutrition*, 123: 1235-1247.
- Bach Knudsen, K.E., Jørgensen, H., Canibe, N. (2000) Quantification of the absorption of nutrients derived from carbohydrate assimilation: model experiment with catheterised pigs fed on wheat- or oat-based rolls. *British Journal of Nutrition*, 84: 449-458
- Bergman, E.N. (1990) Energy contributions of volatile fatty acids from the gastrointestinal tract in various species. *Physiological Reviews*, 70: 567-590.
- Bingham, S.A. (1990) Mechanism and experimental epidemiological evidence relating dietary fiber (non-starch polysaccharides) and starch to protection against large bowel cancer. *Proceedings of the Nutrition Society*, 49: 153-171.
- Björk, I. (1996) Starch: nutritional aspects. En: *Carbohydrates in food*. A.C. Eliasson (Ed.) Marcel Dekker, New York, EEUU, pp: 505-554.
- Björk, I., Asp, N.-G., Birkhed, D. y Lundquist, I. (1984) Effects of processing on availability of starch for digestion in vitro and in vivo; I. Extrusion cooking of wheat flour and starch. *Journal of Cereal Science*, 2: 91-103.
- Bonneau, M. y Desmoulin, B. (1982) Défauts d'odeur sexuelle et possibilités d'emploi des viandes de porc mâle entier. *Journées Recherche Porcine en France*, 14: 11-32.
- Briz, J. (2000) Hábitos y percepciones del consumo de carne en España. *I Simposium PIC: Cadena de la carne porcina. Oportunidades para el sector cárnico en el s. XXI*. 28-29 Marzo, 2000, Sitges (Barcelona).
- Brooks, C.C. (1971) Fatty acid composition of pork lipids as affected by basal diet, fat source and fat level. *Journal of Animal Science*, 33: 1224-1231.

- Brufau, J., Nogareda, C., Pérez-Vendrell, A., Francesch, M. y Esteve-García, E. (1993) Effects postharvest storage on nutritive value of barley in broilers. En: C. Wenk y M. Boessinger (editores) *Enzymes in animal nutrition*. Kartause Ittingen, Thurgau, Suiza, pp: 125-128.
- Bucharles, C., Girard, J.P., Yuan, C.W. y Bonet, M. (1985) *Les lipides animaux dans la filière viande*. París.
- Calvert, R.J., Otsuda, M., Satchithanandam, S. (1989). Consumption of raw potato starch alters intestinal function and colonic cell proliferation in the rat. *Journal of Nutrition*, 119:1610-1616.
- Camara, M., Mourot, J. y Février, C. (1996) Influence of two dairy fats on lipid synthesis in the pig: comparative study of liver, muscle and the two backfat layers. *Annals of Nutrition and Metabolism*, 40: 287-295.
- Cameron, N.D., Warriss, P.D., Porter, S.J. y Enser, M.B. (1990) Comparison of Duroc and British Landrace pigs for meat and eating quality. *Meat Science*, 27: 227-247.
- Campbell, G.I., Rossnagel, B.F., Classen, H.L. y Thacker, P.A. (1989) Genotypic and environmental differences in extract viscosity of barley and their relationship to its nutritive value for broiler chicks. *Animal Feed Science and Technology*, 26: 221-230.
- Canibe, N. y Bach Knudsen, K.E. (2001) Degradation and physicochemical changes of barley and pea fibre along the gastrointestinal tract of pigs. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 82: 27-39.
- Cannon, J.E., Morgan, J.B., Heavner, J., McKeith, F.K., Smith, G.C. y Meeker, D.L. (1995) Pork quality audit: a review of the factors influencing pork quality. *Journal of Muscle Foods*, 6: 369-402.
- Casterline, J.L., Oles, C.J. y Ku, Y. (1997) In vitro fermentation of various food fiber fractions. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 45: 2463-2467.
- Cava, R. (1997) Efecto del sistema de alimentación en la composición y características de la grasa intramuscular del cerdo ibérico. En: *Bases de la calidad del jamón ibérico (materia prima, procesado, producto final)*. Junta de Extremadura, Consejería de Agricultura y Comercio, pp: 35-54.
- Cava, R., Ruiz, J., López-Bote, C., Martín, L., García, C., Ventanas, J. y Antequera, T. (1997) Influence of finishing diet on fatty acid profiles of intramuscular lipids, triglycerides and phospholipids in muscles of the Iberian pig. *Meat science*, 45: 263-270.
- Chabeauti, E. y Noblet, J. (1990) Digestion par le porc en croissance de quatre sources de pailles végétales utilisées seules ou en association. *Journées de la Recherche Porcine*, 22: 167-174.
- Champ, M.M. (1992) Determination of resistant starch in foods and food products: interlaboratory study. *European Journal of Clinical Nutrition*, 46, Suppl. 1: s51-s61.
- Champ, M.M.J. (1996) The analysis of complex carbohydrates: relevance of values obtained in vitro. *Proceedings of the Nutrition Society*, 55: 863-880.

Champ, M.M.J., Molis, C., Flourié, B., Bornet, F., Pellier, P., Colonna, P., Galmiche, J.P. y Rambaud, J.C. (1998) Small-intestinal digestion of partially resistant cornstarch in healthy subjects. *American Journal of Clinical Nutrition*, 68: 705-710.

Chauvel, J. y Saulnier, J. (1989) Influence de l'alimentation sur la qualité du gras des carcasses de porc. *Viandes et Produits Carnés*, 10: 131-136.

Christensen, D.N., Knudsen, K.E.B., Wolstrup, J. y Jensen, B.B. (1999) Integration of ileum cannulated pigs and in vitro fermentation to quantify the effect of diet composition on the amount of short-chain fatty acids available from fermentation in the large intestine. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 79: 755-762.

Cisneros, F., Ellis, M., Baker, D.H., Easter, R.A. y McKeith, F.K. (1996) The influence of short-term feeding of amino acid-deficient diets and high dietary leucine levels on intramuscular fat content of pig muscle. *Animal Science*, 63: 517-522.

Coon, C.N., Akavanichen, O. y Cheng, T.K. (1988) The effect of oligosaccharides on the nutritive value of soybean meal. En: L. Mc Cann (editor) Soybean Utilization Alternatives. Proceedings of a Symposium for alternative crops and products, University of Minnesota, St. Paul, 16-18 February. Centre for alternative crops and products, University of Minnesota, St. Paul, MN, pp: 203-213.

Council Regulation EC 3220/84 for the assessment of the Community scale for grading pig carcasses.

Crespo, N. y Esteve-García, E. (2002) Dietary polyunsaturated fatty acids decrease fat deposition in separable fat depots but not in the remainder carcass. *Poultry Science*, 81: 512-518.

Cummings, J.H., Pomare, E.W., Branch, W.J., Naylor, C.P. y MacFarlane, G.T. (1987) Short chain fatty acids in human large intestine, portal, hepatic and venous blood. *Gut*, 28: 1221-1227.

Cyran, M., Rakowska, M., Wasilewko, J. y Buraczewska, L. (1995) Degradation of dietary fibre polysaccharides of rye in the intestinal tract of growing pigs used as a model for studying digestion in humans. *Journal of Animal and Feed Sciences*, 4: 217-227.

Danfaer, A. (1999) Carbohydrate and lipid metabolism. En: A quantitative biology of the pig. Kyriazakis, I. (Ed.) CABI Publishing, Londres, pp: 333-362.

Davies, A.S. (1974) A comparison of tissue development in Pietrain and Large White pigs from birth to 64 kg live weight. *Animal Production*, 19: 367-376.

Davis, R.H. y Lewis, D. (1969) The digestibility of fats differing in glyceride structure and their effects on growth performance and carcass composition of bacon pigs. *Journal of Agricultural Science*, 72: 217-222.

Desmoulin, B. (1984) Sex effects on the deposition and quality of fat in lean pigs. En: *Fat quality in lean pigs*. Commission of E.C. (Ed.) Meat Research Institute. Special Report, No. 2. Bruselas: 130-144.

- Desmoulin, B., Girard, J.P., Bonneau, M. y Frouin, A. (1983) Aptitudes à l'emploi des viandes porcines suivant le type sexual, le système d'alimentation et le poids d'abattage. *Journées Recherche porcine en France*, 15: 177-192.
- Devol, D.L., McKeith, F.K., Bechtel, P.J., Novakofski, J., Shanks, R.D. y Carr, T.R. (1988) Variation in composition and palatability traits and relationships between muscle characteristics and palatability in a random sample of pork carcasses. *Journal of Animal Science*, 66: 385-395.
- Diestre, A. (1992) La calidad de la canal y de la carne en producción intensiva porcina. En: Porcintecnia, Ciencias Veterinarias, 6ª Ed. Gestora de estudios e información, Madrid.
- Edwards, C.A. y Parrett, A.M. (1996) Plant cell wall polysaccharides, gums, and hydrocolloids: nutritional aspects. En: *Carbohydrates in food*. A.C. Eliasson (Ed.) Marcel Dekker, New York, EEUU, pp: 319-346.
- Ehte, F.R., Jeraci, J.L., Robertson, J.B. y Van Soest, P.J. (1982) The influence of dietary fiber on digestibility, rate of passage and gastrointestinal fermentation in pigs. *Journal of Animal Science*, 55: 1071-1081.
- Eliasson, A.C. y Gudmundsson, M. (1996) Starch: Physicochemical and functional aspects. En: *Carbohydrates in food*. A.C. Eliasson (Ed.) Marcel Dekker, New York, EEUU, pp: 431-504.
- Ellis, P.R., Roberts, F.G., Low, A.G. y Morgan, L.M. (1995) The effect of high-molecular-weight guar gum on net apparent glucose absorption and net apparent insulin and gastric inhibitory polypeptide production in the growing pig: relationship to rheological changes in jejunal digesta. *British Journal of Nutrition*, 74: 539-556.
- Englyst, H.N. y Cummings, J.H. (1990) Non-starch polysaccharides (dietary fiber) and resistant starch. En: I. Furda y C.J. Brine (editores) *New developments of dietary fiber*. Plenum Press, Nueva York, pp: 205-225.
- Englyst, H.N., Kingman, S.M. y Cummings, J.H. (1992) Classification and measurement of nutritionally important starch fractions. *European Journal of Clinical Nutrition*, 46, Suppl. 2: s33-s50.
- Englyst, H.N., Veenstra, J. y Hudson, G.J. (1996) Measurement of rapidly available glucose (RAG) in plant foods: a potential in vitro predictor of the glycaemic response. *British Journal of Nutrition*, 75: 327-337.
- Essen-Gustavsson, B., Karlsson, A., Lundstrom, K. y Enfalt, A.C. (1994) Intramuscular fat and muscle fibre lipid contents of halothane-gene-free pigs fed high or low protein diets and its relation to meat quality. *Meat Science*, 38: 269-277.
- F.E.D.N.A. (1999) De blas, C., García, P. y Mateos, G.G. Normas para la formulación de piensos compuestos. Ed. Fundación Española para el Desarrollo de la Nutrición Animal. Universidad Politécnica de Madrid. España.
- Fadel, J.G., Newman, R.K., Newman, C.W. y Graham, H. (1989) Effects of baking hullless barley on the digestibility of dietary components as measured at the ileum and in the feces of pigs. *Journal of Nutrition*, 119: 722-726.

- Ferguson, M.J. y Jones, G.P. (2000) Production of short-chain fatty acids following in vitro fermentation of saccharides, saccharide esters, fructo-oligosaccharides, starches, modified starches and non-starch polysaccharides. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 80: 166-170.
- Fernández, X., Monin, G., Talmant, A., Mouro, J. y Leuret, B. (1999) Influence of intramuscular fat content on the quality of pig meat – 1. Composition of the lipid fraction and sensory characteristics of m. *Longissimus lumborum*. *Meat Science*, 53: 59-65.
- Fontanillas, R., Barroeta, A.C., Baucells, M.D. y Codony, R. (1997) Effect of feeding highly cis-monounsaturated, trans, or n-3 fats on lipid composition of muscle and adipose tissue of pigs. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 45: 3070-3075.
- Fontanillas, R., Barroeta, A.C., Baucells, M.D. y Guardiola, F. (1998) Backfat fatty acid evolution in swine fed diets high in either cis-monounsaturated, trans, or (n-3) fats. *Journal of Animal Science*, 76: 1045-1055.
- Frayn, K.N. y Kingman, S.M. (1995) Dietary sugars and lipid metabolism in humans. *American Journal of Clinical Nutrition*, 62 (suppl): 250S-263S.
- Freeman, C.P. (1984) Fat supplementation in animal production - monogastric animals. *Proceedings of the Nutrition Society*, 42: 351-359.
- Freire, J.P., Peiniau, J., Cunha, L.F., Almeida, J.A. y Aumaitre, A. (1998) Comparative effects of dietary fat and fibre in Alentejano and Large White piglets: digestibility, digestive enzymes and metabolic data. *Livestock Production Science*, 53: 37-47.
- Gálfi, P. y Neogrady, S. (1996) Short chain fatty acids (acidifiers) as probiotics in diets for piglets. *4th International Feed Production Conference held in Piacenza*. Ed. G. Piva.
- Gallant, D.J., Bouchet, B., Buleon, A. y Pirez, S. (1992) Physical characteristics of starch granules and susceptibility to enzymatic degradation. *European Journal of Clinical Nutrition*, 46 (Suppl. 2): S3-S16.
- Gandemer, G., Pichou, D., Bouguennec, B., Caritez, J.C., Berge, P., Briand, E. y Legault, C. (1990) Influence du système d'élevage et du génotype sur la composition chimique et les qualités organoleptiques du muscle lon dorsal chez le porc. *Journées Recherche Porcine en France*, 22: 101-110.
- Getachew, G., Blümmel, M., Makkar, H.P.S. y Becker, K. (1998) *In vitro* gas measuring techniques for assessment of nutritional quality of feeds: a review. *Animal Feed Science and Technology*, 72: 261-281.
- Gibson, G.R. y McCartney, A.L. (1998) Modification of the gut flora by dietary means. *Biochemical Society Transactions*, 26: 222-228.
- Girard, J., Ferré, P. y Fofelle, F. (1997) Mechanisms by which carbohydrates regulate expression of genes for glycolytic and lipogenic enzymes. *Annual Reviews of Nutrition*, 17: 325-352.



- Gispert, M. y Diestre, A. (1994) Classement des carcasses de porc en Espagne: un pas vers l'harmonisation communautaire. *Techni-Porc*, 29-32.
- Giusi-Perier, A., Fiszewicz, M. y Rérat, A. (1989) Influence of diet composition on intestinal volatile fatty acid and nutrient absorption in unanesthetized pigs. *Journal of Animal Science*, 67: 386-402.
- Glinsmann, W.H., Irausquin, H. y Park, Y.K. (1986) Evaluation of health aspects of sugars contained in carbohydrate sweeteners. *Journal of Nutrition*, 116 (suppl): S1-216.
- Glitsø, L.V., Brunsgaard, G., Højsgaard, S., Sandström, B. y Bach Knudsen, K.E. (1998) Intestinal degradation in pigs of rye dietary fibre with different structural characteristics. *British Journal of Nutrition*, 80: 457-468.
- Goodlad, J.S. y Mathers, J.C. (1990) Large bowel fermentation in rats given diets containing raw peas (*Pisum sativum*). *British Journal of Nutrition*, 64: 569-587.
- Granfeldt, Y.E., Drews, A.W. y Bjorck, I.M.E. (1993) Starch bioavailability in arepas made from ordinary or high amylose corn: concentration and gastrointestinal fate of resistant starch in rats. *Journal of Nutrition*, 123: 1676-1684.
- Grosjean, F., Bastianelli, D., Bourdillon, A., Cerneau, P., Jondreville, C. y Peyronnet, C. (1998) Feeding value of pea (*Pisum sativum*, L.). 2. Nutritional value in the pig. *Animal Science*, 67: 621-625.
- Gunstone, F.D. y Norris, F.A. (1983) *Lipids in Foods. Chemistry, Biochemistry and Technology*. Ed. Pergamon Press. Oxford, UK.
- Gurr, M.I. (1984) Fats that are essential in the diet. En: *Role of fats in food and nutrition*. Elsevier Applied Science Publishers. Londres. pp: 94-115.
- Hahn, D.H., Rooney, L.W. y Earp, C.F. (1984) Tannins and phenols of sorghum. *Cereal Foods World*, 29: 776.
- Hauser, N., Mouro, J., De Clercq, L., Genart, C. y Remacle, C. (1997) The cellularity of developing adipose tissues in Pietrain and Meishan pigs. *Reproduction, Nutrition, Development*, 37: 617-626.
- Henry, Y. (1972) Facteurs de variation de la composition des dépôts adipeux chez le porc. *Revue Française des Corps Gras*, 19: 367-376.
- Hertzman, C., Göransson, L. y Rudéus, H. (1988) Influence of simeal, rape-seed, and rape-seed meal in fed on the fatty acid composition and storage stability of porcine body fat. *Meat Science*, 23: 37-53.
- Hodgson, R.R., Davis, G.W., Smith, G.C., Savell, J.W. y Cross, H.R. (1991) Relationships between pork loin palatability traits and physical characteristics of cooked chops. *Journal of Animal Science*, 69: 4858-4865.

Holm, J., Hagander, B., Björck, I., Eliasson, A.C. y Lundquist, I. (1989) The effect of various thermal processes on the glycaemic response to whole-grain wheat products. *Journal of Nutrition*, 119: 1631.

Hood, R.L. (1982) Relationships among growth, adipose cell size, and lipid metabolism in ruminant adipose tissue. *Federation Proceedings*, 41: 2555-2561.

Houdijk, J.G.M., Bosch, M.W., Verstegen, M.W.A. y Berenpas, H.J. (1998) Effects of dietary oligosaccharides on the growth performance and faecal characteristics of young growing pigs. *Animal Feed Science Technology*, 71: 35-48.

Hudgins, L.C., Hellerstein, M.K., Seidman, C.E., Neese, R.A., Tremaroli, J.D. y Hirsch, J. (2000) Relationship between carbohydrate-induced hypertriglyceridemia and fatty acid synthesis in lean and obese subjects. *Journal of Lipid Research*, 41: 595-604.

Hudgins, L.C., Seidman, C.E., Diakun, J. y Hirsch, J. (1998) Human fatty acid synthesis is reduced after the substitution of dietary starch for sugar. *American Journal of Clinical Nutrition*, 67: 631-639.

Imoto, S. y Namioka, S. (1978) Volatile fatty acid production in the pig large intestine. *Journal of Animal Science*, 47: 467-478.

Imoto, S. y Namioka, S. (1983) Acetate-glucose relationship in growing pigs. *Journal of Animal Science*, 56: 867-875.

Isabel, B. (2000) Incorporación tisular de ácidos grasos, modificación en la consistencia de la grasa y susceptibilidad a la oxidación por la utilización de distintos tipos de grasas y antioxidantes naturales en la alimentación del cerdo. Tesis Doctoral, Universidad Complutense de Madrid. Facultad de Veterinaria.

Jansman, A.J.M. (1993) Tannins in feedstuffs of simple stomached animals. *Nutrition Research Reviews*, 6: 209-236.

Jensen, B.B. (2001) Possible ways of modifying type and amounts of products from microbial fermentation in the gut. En *Gut environment of pigs*, pp. 181-200. A. Piva, K.E. Bach Knudsen y J.E. Lindberg (eds). Nottingham, UK: Nottingham University Press.

Jensen, M.T., Cox, R.P. y Jensen, B.B. (1995) Microbial production of skatol in the hind gut of pig fed different diets and its relation to skatole deposition in back fat. *Animal Science*, 61: 293-304.

Jørgensen, H., Zhao, X.Q. y Eggum, B.O. (1996) The influence of dietary fibre and environmental temperature on the development of the gastrointestinal tract, digestibility, degree of fermentation in the hind-gut and energy metabolism in pigs. *British Journal of Nutrition*, 75: 365-378.

Kabir, M., Rizkalla, S.W., Champ, M., Luo-J., Boillot, J., Bruzzo, F., Slama, G. y Luo, J. (1998) Dietary amylose-amylopectin starch content affects glucose and lipid metabolism in adipocytes of normal and diabetic rats. *Journal of Nutrition*, 128: 35-43.

- Katsumata, M., Hirose, H., Kaji, Y. y Saitoh, M. (1995) Influence of a high ambient temperature and dietary fat supplementation on fatty acid composition of depot fats in finishing pigs. *Animal Science and Technology*, 66: 225-232.
- Keys, J.E. y DeBarthe, J.V. (1974) Cellulose and hemicellulose digestibility in the stomach, small intestine and large intestine of swine. *Journal of Animal Science*, 39: 53-56.
- Kim, K.-H. (1997) Regulation of mammalian acetyl-coenzyme A carboxylase. *Annual Reviews of Nutrition*, 17: 77-99.
- Knap, P.W. (2000) Animal-intrinsic variation in the partitioning of body protein and lipid in growing pigs. *Animal Science*, 70: 29-37.
- Kondracki, S. (2000) Effect of breed, sex and feeding intensity on fatty acid composition of the longissimus dorsi muscle. *Pig News and Information*, 21: 105N-108N.
- Kouba, M. y Mouro, J. (1998) Effect of a high linoleic acid diet on  $\Delta^9$ -desaturase activity, lipogenesis and lipid composition of pig subcutaneous adipose tissue. *Reproduction, Nutrition, Development*, 38: 31-37.
- Lakshmanan, M.R., Nepokroeff, C.M. y Porter, J.W. (1972) Control of the synthesis of fatty-acid synthetase in rat liver by insulin, glucagon, and adenosine 3':5' cyclic monophosphate. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA*, 69: 3516-3519.
- Lan, Y.H., McKeith, F.K., Novakofski, J. y Carr, T.R. (1993) Carcass and muscle characteristics of Yorkshire, Meishan, Yorkshire x Meishan, Meishan x Yorkshire, Fengjing x Yorkshire, and Minzhu x Yorkshire pigs. *Journal of Animal Science*, 71: 3344-3349.
- Lang, V., Bornet, F.R., Vaugelade, P., van Ypersele de Strihou, M., Luo, J., Pacher, N., Rossi, F., La Droite, P., Duee, P.H. y Slama, G., (1999b) Euglycemic hyperinsulinemic clamp to assess posthepatic glucose appearance after carbohydrate loading. 2. Evaluation of corn and mung bean starches in healthy men. *American Journal of Clinical Nutrition*, 69: 1183-1188.
- Lang, V., Vaugelade, P., Bernard, F., Darcy-Vrillon, B., Alamowitch, C., Slama, G., Duee, P.H. y Bornet, F.R. (1999a) Euglycemic hyperinsulinemic clamp to assess posthepatic glucose appearance after carbohydrate loading. 1. Validation in pigs. *American Journal of Clinical Nutrition*, 69: 1174-1182.
- Le Dividich, J., Esnault, T., Lynch, B., Hoo-Paris, R., Castex, C. y Peiniau, J. (1991) Effect of colostrum fat on fat deposition and plasma metabolites in the newborn pig. *Journal of Animal Science*, 69: 2480-2488.
- Leat, W.M.F., Cuthbertson, A., Howard, A.N. y Gresham, G.A. (1964) Studies on pigs reared on semisynthetic diets containing no fat, beef tallow and maize oil: composition of carcass and fatty acid composition of various depot fats. *Journal of Agricultural Science*, 63: 311.
- Lee, Y.B. y Kauffman, R.G. (1974) Cellular and enzymatic changes with animal growth in porcine intramuscular adipose tissue. *Journal of Animal Science*, 38: 532-537.

Lentsch, D.M., Pruska, K.J., Fedler, C.A., Meisinger, D. y Goodwin, R. (1991) Factors influencing the sensory quality of pork loin chops. *Journal of Animal Science*, 66 (Supl. 1): 346.

Leseigneur-Meynier, A. y Gandemer, G. (1991) Lipid composition of pork muscle in relation to the metabolic type of the fibres. *Meat Science*, 29: 229-241.

Leser, T.D., Amenuvor, J.Z., Jensen, T.K., Lindecrona, R.H., Boye, M. y Møller, K. (2002) Culture-independent analysis of gut bacteria: the pig gastrointestinal tract microbiota revisited. *Applied and environmental microbiology*, 68: 673-690.

Levitt, M.D. (1983) Malabsorption of starch: A normal phenomenon. *Gastroenterology*, 85: 769-770.

Lineback, D.R. y Rasper, V.F. (1988) Wheat carbohydrates. En: *Wheat: chemistry and technology*. Y. Pomeranz (Ed.) American Association of Cereal Chemists, vol 1, pp. 277. St. Paul, MN (EEUU).

Lizaso, J. (2000) Alimentación nitrogenada en el cerdo ibérico. *II Jornadas: El cerdo ibérico y sus productos*. Estación tecnológica de la carne de Castilla y León (Ed.) pp: 33-56.

Livesey, G. (1990). Energy values of unavailable carbohydrate and diets: an inquiry and analysis. *American Journal of Clinical Nutrition*, 51: 617-637.

Lizardo, R., Peiniau, J. y Aumaitre, A. (1995) Effect of sorghum on performance, digestibility of dietary components and activities of pancreatic and intestinal enzymes in the weaned piglet. *Animal Feed Science and Technology*, 56: 67-82.

López-Bote, C.J. (1998) Sustained utilization of the Iberian pig breed. *Meat Science*, 49: S17-S27.

López-Bote, C.J., Isabel, B. y Rey, A.I. (1998) Alimentación del cerdo ibérico y calidad de la producción cárnica. *Anaporc*, 177: 50-73.

Low, A.G. (1993) Role of dietary fibre in pig diets. *Recent developments in pig nutrition 2*. Cole y Haresign (Eds.) Gransworthy, pp: 137-162.

Low, A.G. y Longland, A.C. (1990) Carbohydrate and dietary fibre digestion in the pig and the possible influence of feed enzymes. *Feed-Compounder*, 10: 37-42.

MacFarlane, G.C., Cummings, J. H. y Allison, C. (1986) Protein degradation by human intestinal bacteria. *Journal of General Microbiology*, 132: 1647.

Makkar, H.P.S. y Becker, K. (1999) Purine quantification in digesta from ruminants by spectrophotometric and HPLC methods. *British Journal of Nutrition*, 81: 107-112.

Malmfors, B., Lundström, K. y Hansson, I. (1978) Fatty acid composition of porcine back fat and muscle lipids as affected by sex, weight and anatomical location. *Swedish Journal of Agricultural Research*, 8: 25-38.

Mañas, E., Bravo, L. y Saura-Calixto, F. (1994) Sources of error in dietary fibre analysis. *Food Chemistry*, 50: 331-342.

- Martin, G., Carnicero, M. y Ruiz, J. (1992) The Iberian pig: an animal with fat with a high content of monounsaturated fatty acids. *Nutrición Hospitalaria*, 7: 329-332.
- Mathers, J.C. (1991) Digestion of non-starch polysaccharides by non-ruminant omnivores. *Proceedings of the Nutrition Society*, 50: 161-172.
- Mathers, J.C. y Dawson, L.D. (1991) Large bowel fermentation in rats eating processed potatoes. *British Journal of Nutrition*, 66: 313-329.
- Mathers, J.C., Smith, H. y Carter, S. (1997) Dose-response effects of raw potato starch on small intestinal escape, large-bowel fermentation and gut transit time in the rat. *British Journal of Nutrition*, 78: 1015-1029.
- Mathew, A.G., Jones, T. y Franklin, M.A. (1994) Effect of creep feeding on selected microflora and short-chain fatty acids in the ileum of weanling pigs. *Journal of Animal Science*, 72: 3163-3168.
- McCance y Widdowson (1993) The composition of Foods. McCance and Widdowson's. 5th ed. Cambridge, UK.: The Royal Society of Chemistry and Ministry of Agriculture, Fisheries and Food.
- McDougall, G.J., Morrison, I.M., Stewart, D. y Hillman, J.R. (1996) Plant cell walls as dietary fibre: range, structure, processing and function. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 70: 133-150.
- McNeill, J.W., Potter, G.D., Riggs, J.K. y Rooney, L.W. (1975) Chemical and physical properties of processed sorghum grain carbohydrates. *Journal of Animal Science*, 40: 335-341.
- Mears, G.J. y Mendel, V.E. (1974) Correlation of food intake in lambs with adipocyte glucose metabolism and NEFA release. *Journal of Physiology*, 240: 625-637.
- Menke, K.H. y Steingass, H. (1988) Estimation of the energetic feed value obtained from chemical analysis and *in vitro* gas production using rumen fluid. *Animal Research and Development* 28: 1-55.
- Mersmann, H.J. (1986) Lipid metabolism in swine. En Swine in cardiovascular research. Stanton, H.C. y Mersmann, H.J. (Eds.) CRC Press, Florida, EEUU. Vol. 1, capítulo 6: 75-103.
- Mersmann, H.J., Allen, C.D., Steffen, D.G., Brown, L.G. y Danielson, D.M. (1976) Effect of age, weaning and diet on swine adipose tissue and liver lipogenesis. *Journal of Animal Science*, 43: 140-150.
- Miller, M.F., Shackelford, S.D., Hayden, K.D. y Reagan, J.O. (1990) Determination of the alteration in fatty acid profiles, sensory characteristics and carcass traits of swine fed elevated levels of monounsaturated fats in the diet. *Journal of Animal Science*, 68: 1624-1631.
- Monsma, D.J., Thorsen, P.T., Vollendorf, N.W., Crenshaw, T.D. y Marlett, J.A. (2000) In vitro fermentation of swine ileal digesta containing oat bran dietary fiber by rat cecal inocula adapted to the test fiber increases propionate production but fermentation of wheat bran ileal digesta does not produce more butyrate. *Journal of Nutrition*, 130: 585-593.

- Moore, W.E.C., Moore, L.V.H., Cato, E.P., Wilkins, T.D. y Kornegay, E.T. (1987) Effect of high-fiber and high-oil diets on the faecal flora of swine. *Applied and Environmental Microbiology*, 53: 1638-1644.
- Morgan, C.A., Noblet, R.C., Cocchi, M., McCartney, I. (1992) Manipulation of the fatty acid composition of pig meat lipids by dietary means. *Food and agriculture*, 58: 357-368
- Mortensen, B., Holtug, K. y Rasmussen, H.S. (1988) Short-chain fatty acid production from mono- and disaccharides in a fecal incubation system: implications for colonic fermentation of dietary fiber in humans. *Journal of Nutrition*, 118: 321-325.
- Mortensen, F.V., Nielsen, H., Mulvaney, M.J., Hesso, I. (1991). Short chain fatty acids dilate human colonic resistance arteries. *Gut*, 31:1391-1394.
- Mourot, J. y Hermier, D. (2001) Lipids in monogastric animal meat. *Reproduction, Nutrition, Development*, 41: 109-118.
- Mourot, J. y Kouba, M. (1998) Lipogenic enzyme activities in muscles of growing Large White and Meishan pigs. *Livestock Production Science*, 55: 127-133.
- Mourot, J. y Kouba, M. (1999) Development of intra- and intermuscular adipose tissue in growing Large White and Meishan pigs. *Reproduction, Nutrition, Development*, 39. 125-132.
- Mourot, J., Kouba, M. y Bonneau, M. (1996) Comparative study of *in vitro* lipogenesis in various adipose tissues in the growing Meishan pig: comparison with the Large White pig (*Sus domesticus*). *Comparative Biochemistry And Physiology*, 115B: 383-388.
- Mourot, J., Kouba, M. y Peiniau, P. (1995) Comparative study of *in vitro* lipogenesis in various adipose tissues in the growing domestic pig (*Sus domesticus*). *Comparative Biochemistry And Physiology*, 111B: 379-384.
- Muir, J.G., Young, G.P., O'Dea, K., Cameron-Smith, D., Brown, I.E., and Collier, G.R. (1993) Resistant starch - the neglected 'dietary fiber'? Implications for health. En: *Dietary fiber bibliography and reviews*, pp: 1:33.
- National Research Council (NRC) (1998) Nutrient requirements of Swine. 10ª edición revisada ed. National Academy Press, Washington, D.C. (EEUU).
- Nishina, P.M. y Freedland, R.A. (1990) Effects of propionate on lipid biosynthesis in isolated rat hepatocytes. *Journal of Nutrition*, 120: 668-673.
- O'Hea, E.K. y Leveille, G.A. (1969) Significance of adipose tissue and liver as sites of fatty acid synthesis in the pig and the efficiency of utilization of various substrates for lipogenesis. *Journal of Nutrition*, 99. 338-344.
- O'Sullivan, D.J. (1999) Methods of analysis of the intestinal microflora. En: *Probiotics: a critical review*. G.W. Tannock (Ed). Horizon Scientific Press, Norfolk, UK, pp: 23-44.
- Odrozola, M., Zuzuarregui, J. y Sierra de Castro, M. (1969) Estabulación de cerdos Ibéricos. Ed. Instituto Nacional de Colonización. Ministerio de Agricultura.

- Ovilo, C., Pérez-Enciso, M., Barragán, C., Clop, A., Rodríguez, C., Oliver, M.A., Toro, M.A. y Noguera, J.L. (2000) A QTL for intramuscular fat and backfat thickness is located on porcine chromosome 6. *Mammalian Genome*, 11: 344-346.
- Pascual, J.V. (2000) Estudio del efecto de la raza y la alimentación en la grasa del cerdo a lo largo del crecimiento. Tesis Doctoral. Universitat de Barcelona. Departament de Nutrició i Bromatologia.
- Pascual-Reas, B. (1997) A comparative study on the digestibility of cassava, maize, sorghum and barley in various segments of the digestive tract of growing pigs. *Livestock Research for Rural Development*, 9.
- Patridge, G.R. (1993) In feed enzymes and antibodies. *Pig Veterinary Journal*, 31: 34-50.
- Pelleymounter, M.A., Cullen, M.J., Baker, M.B., Hecht, R., Winters, D., Boone, T. y Collins, F. (1995) Effects of the obese gene product on body weight regulation in ob/ob mice. *Science*, 269: 540-543.
- Pérez, J.F., Balcells, J., Guada, J.A. y Castrillo, C. (1997) Rumen microbial production estimated either from urinary purine derivative excretion or from direct measurements of <sup>15</sup>N and purine bases as microbial markers: effect of protein source and rumen bacteria isolates. *Animal Science*, 65: 225-236.
- Pérez-Enciso, M., Clop, A., Noguera, J.L., Ovilo, C., Coll, J.M., Folch, J.M., Babot, D., Estany, J., Oliver, M.A., Díaz, I. y Sánchez, A. (2000) The porcine FAT1 locus affects fatty acid metabolism: Evidence from an iberian by landrace intercross. *Journal of Animal Science*, 78: 2525-2531.
- Pettersson, A. y Lindberg, J.E. (1997) Ileal and total tract digestibility in pigs of naked and hulled barley with different starch composition. *Animal Feed Science and Technology*, 66: 97-109.
- Pluske, J.R., Pethick, D.W. y Mullan, B.P. (1998) Differential effects of feeding fermentable carbohydrate to growing pigs on performance, gut size and slaughter characteristics. *Animal Science*, 67: 147-156.
- Pluske, J.R., Siba, P.M., Pethick, D.W., Durmic, Z., Mullan, B.P. y Hampson, D.J. (1996) The incidence of swine dysentery in pigs can be reduced by feeding diets that limit the amount of fermentable substrate entering the large intestine. *Journal of Nutrition*, 126: 2920-2933.
- Pond, W.G., Church, D.C. y Pond, K.R. (1995) Carbohydrates. En: *Basic animal nutrition and feeding*, 4th Ed. W.G. Pond, D.C. Church y K.R. Pond (Eds.) John Wiley & Sons, New York, EEUU, pp: 79-94.
- Pond, W.G., Jung, H.G. y Varel V.H. (1988) Effect of dietary fiber on young adult genetically lean, obese and contemporary pigs: body weight, carcass measurements, organ weights and digesta content. *Journal of Animal Science*, 66: 699-706.
- Powles, J., Wiseman, J., Cole, D.J.A. y Hardy, B. (1993) Effect of chemical structure of fats upon their apparent digestible energy value when given to growing / finishing pigs. *Animal Production*, 57: 137-146.

Ramsey, C.B., Tribble, L.F., Wu, C. y Lind, K.D. (1990) Effects of grains, marbling and sex on pork tenderness and composition. *Journal of Animal Science*, 68: 148-154.

Reid, C.A. y Hillman, K. (1999) The effects of retrogradation and amylose/amylopectin ratio of starches on carbohydrate fermentation and microbial populations in the porcine colon. *Animal Science*, 68: 503-510.

Requena, T., Burton, J., Matsuki, T., Munro, K., Simon, M.A., Tanaka, R., Watanabe, K. y Tannock, G.W. (2002) Identification, detection, and enumeration of human Bifidobacterium species by PCR targeting the transaldolase gene. *Applied and Environmental Microbiology*, 68: 2420-2427.

Riby, J.E., Fujisawa, T., Kretchmer, N. (1993). Fructose absorption. *American Journal of Clinical Nutrition*, 58 (suppl): 748S.

Roberfroid, M., Gibson, G.R. y Delzenne, N. (1993) The Biochemistry of oligofructose, a nondigestible fiber: an approach to calculate its caloric value. *Nutrition Reviews*, 51: 137-146.

Robinson, I.M., Allison, M.J. y Bucklin, J.A. (1981) Characterization of the cecal bacteria of normal pigs. *Applied and Environmental Microbiology*, 41: 950-955.

Robinson, I.M., Whipp, S.C., Bucklin, J.A. y Allison, M.J. (1992) Characterization of predominant bacteria from the colons of normal and dysenteric pigs. *Applied and Environmental Microbiology*, 48: 964-969.

Roby, J.F. (1998) Essentials of carbohydrate chemistry. En: C.R. Cantor (editor) Polysaccharides I: Structure and function. Center of Advanced Biotechnology, Boston University, Boston, pp.: 157-227.

Romsos, D. R. (1998) Opportunities for application of studies on leptin in animal production. En: Energy Metabolism of Farm Animal. K. J. McCracken, E. F. Unsworth y A. R. G. Wylie (Eds.) CAB International. U.K.

Rooney, L.W. y Pflugfelder, R.L. (1986) Factors affecting starch digestibility with special emphasis on sorghum and corn. *Journal of Animal Science*, 63: 1607-1623.

Ruiz, J., Cava, R., Antequera, T., Martín, L., Ventanas, J. y López-Bote, C.J. (1998) Prediction of the feeding background of Iberian pigs using the fatty acid profile of subcutaneous, muscle and hepatic fat. *Meat Science*, 49. 155-163.

Sakata, T. (1989). Stimulatory effect of short chain fatty acids on epithelial cell proliferation of isolated and denervated jejunal segment of the rat. *Scandinavian Journal of Gastroenterology*, 24: 886-890.

Salvador, V., Cherbut, C., Barry, J.I., Bertrand, D., Bonnet, C. y Delort-Laval, J. (1993) Sugar composition of dietary fibre and short-chain fatty acid production during in vitro fermentation by human bacteria. *British Journal of Nutrition*, 70: 189-197.



- Sanz, M., Flores, A., Perez de Ayala, P. y Lopez-Bote, C.J. (1999) Higher lipid accumulation in broilers fed on saturated fats than in those fed on unsaturated fats. *British Poultry Science*, 40: 95-101.
- Schinckel, A.P. (1994) Nutrient requirements of modern pig genotypes. En: P.C. Garnsworthy, W. Haresign, D.J.A. Cole (Eds) *Recent Advances in Animal Nutrition*. pp: 133-172. Nottingham University Press, Nottingham, UK.
- Schrama, J.W., Bosch, M.W., Verstegen, M.W.A., Vorselaars, A.H.P.M., Haaksma, J. y Heetkamp, M.J.W. (1998) The energetic value of nonstarch polysaccharides in relation to physical activity in group-housed, growing pigs. *Journal of Animal Science*, 76: 3016-3023.
- Scott, R.A., Cornelius, S.G. y Mersmann, H.J. (1981) Effects of age on lipogenesis and lipolysis in lean and obese swine. *Journal of Animal Science*, 52: 505-511.
- Serra, X., Gil F., Pérez-Enciso, M., Oliver, M.A., Vázquez, J.M., Gispert, M., Díaz, I., Moreno, F., Latorre, R. y Noguera, J.L. (1998) A comparison of carcass, meat quality and histochemical characteristics of iberian (Guadyerbas line) and landrace pigs. *Livestock Production Science*, 56: 215-223.
- Skrabanja, V., Liljeberg, H.G.M., Hedley, C.L., Kreft, I. y Bjorck, I.M.E. (1999) Influence of genotype and processing on the in vitro rate of starch hydrolysis and resistant starch formation in peas (*Pisum sativum* L.). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47: 2033-2039.
- Smith, D.R., Knabe, D.A. y Smith, S.B. (1996) Depression of lipogenesis in swine adipose tissue by specific dietary fatty acids. *Journal of Animal Science*, 74: 975-983.
- Smith, J.G. y German, J.B. (1995) Molecular and genetic effects of dietary derived butyric acid. *Food Technology*, 11: 87-90.
- Souci, Fachmann y Kraut (1994) Food composition and nutrition tables. 5th ed. Medpharm GmbH Scientific Publishers.
- St. John, L.C., Young, C.R., Knabe, D.A., Thompson, L.D., Schelling, G.T., Grundy, S.M. y Smith, S.B. (1987) Fatty acid profiles and sensory and carcass traits of tissues from steers and swine fed an elevated monounsaturated fat diet. *Journal of Animal Science*, 64: 1441-1447.
- Stephen, A.M., Wiggins, H.S. y Cummings, J.H. (1987) Effects of changing transit time on colonic microbial metabolism in man. *Gut*, 28: 601-609.
- Stewart, C.S., Hillman, K., Maxwell, F., Kelly, D. y King, T.P. (1993) Recent advances in probiosis in pigs: observations on the microbiology of the pig gut. En: P.C. Garnsworthy, W. Haresign, D.J.A. Cole (Eds) *Recent Advances in Animal Nutrition*. pp: 197-220. Nottingham University Press, Nottingham, UK.
- Theander, O. y Åman, P. (1980) Chemical composition of some forage and various residues from feeding value determinations. *Journal of Science and Food Agriculture*, 31: 31-37.

Theander, O. y Westerlund, E. (1993) Quantitative analysis of cell wall components. En: *Forage Cell Wall Structure and Digestibility*; H.G. Jung, D.R. Buxton, R.D. Hatfield y J. Ralph (Eds.); American Society of Agronomy: Madison, WI, EEUU; pp 83-99.

Theander, O., Åman, P., Westerlund, E. y Graham, H. (1990) The Uppsala method for rapid analysis of total dietary fiber. En: I. Furda y C.J. Brine (editors) *New developments in dietary fiber*. Plenum Press, Nueva York, pp: 273-281.

Theander, O., Åman, P., Westerlund, E. y Graham, H. (1994) Enzymatic / chemical analysis of dietary fibre. *Journal of AOAC*, 77: 703-709.

Topping, D.L., Gooden, J.M., Brown, I.L., Biebrick, D.A., McGrath, L., Trimble, R.P., Choct, M. y Illman, R.J. (1997) A high amylose (amylo maize) starch raises proximal large bowel starch and increases colon length in pigs. *Journal of Nutrition*, 127: 615-622.

Topping, D.L., Illman, R.J., Clarke, J.M., Trimble, R.P., Jackson, K.A., Marsono, Y. (1993) Dietary fat and fiber alter large bowel and portal venous volatile fatty acids and plasma cholesterol but not biliary steroids in pigs. *Journal of Nutrition*, 123: 133-143.

Touraille, C. Y Monin, G. (1989) Eating quality of meat from European x Chinese crossbred pigs. *Meat Science*, 25: 177-186.

Towle, H.C., Kaytor, E.N. y Shih, H.M. (1997) Regulation of the expression of lipogenic enzyme genes by carbohydrate. *Annual Reviews of Nutrition*, 17: 405-433.

Truswell, A.S. (1994) Food carbohydrates and plasma lipids – an update. *American Journal of Clinical Nutrition*, 59 (suppl): 710S-718S.

Van der Meulen, J., Bakker, G.C.M., Bakker, J.G.M., de Visser, H., Jongbloed, A.W. y Everts, H. (1997) Effect of resistant starch on net portal-drained viscera flux of glucose, volatile fatty acids, urea, and ammonia in growing pigs. *Journal of Animal Science*, 75. 2697-2704.

Van Golde, L.M.G. y van den Bergh, S.G. (1977) Introduction: general pathways in the metabolism of lipids in mammalian tissues. En: *Lipid Metabolism in Mammals*. F. Snyder (Ed.). Plenum Press, New York, vol. 1, pág. 1-149.

Van Soest, P.J. y Wine, R.H. (1967) Use of detergents in the analysis of fibrous feeds IV. Determination of plant cell wall constituents. *Journal of AOAC*, 50: 50-55.

Van Soest, P.J., Jeraci, J., Foose, T., Wrick, K. y Ehle, F. (1983) Comparative fermentation of fibre in man and other animals. En: *Fibre in Human and Animal Nutrition*, pp. 75-80. G. Wallace y L. Bell (Eds). Wellington, New Zealand: The Royal Society of New Zealand.

Varel, V.H., Jung, H.G. y Pond, W.G. (1988) Effect of dietary fiber on young adult genetically lean, obese and contemporary pigs: rate of passage, digestibility and microbiological data. *Journal of Animal Science*, 66: 707-712.

Ventanas, J. (1999) Composición y características de la grasa en el cerdo ibérico e influencia sobre la calidad del jamón. *I Jornadas sobre el Cerdo Ibérico y sus productos*, 22-25 Junio, 1999, Guijuelo (Salamanca); pp: 213-218.

- Vervaeke, I.J., Decuypere, J.A., Dierick, N.A. y Henderickx, H.K. (1979) Quantitative *in vitro* evaluation of the energy metabolism influenced by Virginiamycin and Spiramycin used as growth promoters in pig nutrition. *Journal of Animal Science*, 49: 846-856.
- Vervaeke, I.J., Graham, H., Dierick, N.A., Demeyer, D.I. y Decuypere, J.A. (1991) Chemical analysis of cell wall and energy digestibility in growing pigs. *Animal Feed Science and Technology*, 32: 55-61.
- Villegas, F.J., Hedrick, H.B., Venum, T.L., McFale, K.L. y Bailey, M.E. (1973) Effect of diet and breed on fatty acid composition of porcine adipose tissue. *Journal of Animal Science*, 36: 663-668.
- Wang, R-F., Cao, W-W. y Cerniglia, C.E. (1996) PCR detection and quantitation of predominant anaerobic bacteria in human and animal fecal samples. *Applied and environmental microbiology*, 62: 1242-1247.
- Warnants, N., Monique, J., Van Oeckel, M.J., Boucqué, C.V. (1996) Incorporation of dietary polyunsaturated fatty acids in pork tissues and its implications for the quality of the end products. *Meat Science*, 44: 125-144.
- Whittemore, C. (1993) Ciencia y práctica de la producción porcina. Zaragoza: Editorial Acribia.
- Williams, B.A., Voigt, C. y Verstegen, M. (1998) The faecal microbial population can be representative of large intestinal microfloral activity. *Proceedings of the British Society of Animal Science* 1998, p. 165.
- Williams, P.E.V., Geraert, P.A., Uzu, G. y Annison, G. (1997) Factors affecting non-starch polysaccharide digestibility in poultry. *Options Méditerranéennes*, 26: 125-134.
- Wood, J. D. (1984) Fat quality in pigmeat – U.K. En: Commission of E.C., ed. *Fat quality in lean pigs*. Meat Research Institute. Special Report No. 2. Bruselas (Bélgica); pp: 9-14.
- Wood, J.D., Jones, R.C.D., Francombe, M.A. y Whelehan, O.P. (1986) The effects of fat thickness and sex on pig meat quality with special reference to the problems associated with overleanness. 2. Laboratory and trained taste panel results. *Animal Production*, 43: 535-544.
- Yen, J.T., Nienaber, J.A., Hill, D.A. y Pond, W.G. (1991) Potential contribution of absorbed volatile fatty acids to whole-animal energy requirement in conscious swine. *Journal of Animal Science*, 9: 2001-2012.
- Zhou, X.H., Kaplan, M.L. y Zhou, X.H. (1997) Soluble amylose cornstarch is more digestible than soluble amylopectin potato starch in rats. *Journal of Nutrition*, 127: 1349-1356.
- Zierler, K. (1999) Whole body glucose metabolism. *American Journal of Physiology*: E409-E426.