

NA 24 Comparación de métodos de recuperación del residuo no digerido en ensayos de producción de gas *in vitro*.**Comunicación**Scarponi Gómez A^{1,2}, Martínez Ferrer J², Brunetti MA², Cerón Cucchi ME^{1,3}, Moreno MV², García F⁴¹ CONICET. ² INTA EEA Manfredi. ³ IPVeT, CICVyA UEDD INTA-CONICET. ⁴ UNC, FCA

*E-mail: antoscarponi1@gmail.com

*Comparison of recovery methods for undigested residue in in vitro gas production technique. Communication***Introducción**

La técnica de producción de gas *in vitro* es un método sencillo que permite evaluar simultáneamente el efecto de un gran número de tratamientos o alimentos en la fermentación ruminal. Para calcular y evaluar los cambios en la digestibilidad del sustrato, el residuo no digerido se debe recuperar al finalizar la incubación. El objetivo de este trabajo fue comparar métodos de recuperación del residuo no digerido en ensayos de producción de gas y digestibilidad *in vitro*.

Materiales y métodos

Se evaluaron cinco métodos de recuperación del residuo no digerido para la técnica de producción de gas y digestibilidad *in vitro*: filtrado en crisoles (**FC**) (método tradicionalmente utilizado en el laboratorio de Forrajes y Nutrición Animal de la EEA Manfredi, INTA); centrifugado (**Cf**); filtrado en bolsas Ankom F57 (**FB**); incubación en bolsas Ankom F57 (**InF57**); incubación en bolsas 1020 (**In1020**). La fermentación por 48 h se realizó en botellas de 100 mL, con 10 mL de inóculo ruminal (**IR**), 40 mL de buffer y 0,5 g de sustrato (80:20 heno de alfalfa y maíz). En los métodos InF57 e In1020, el sustrato se colocó dentro de las bolsas respectivas y las botellas se sellaron con ellas dentro (Bizzuti *et al.*, 2023). El IR se extrajo de dos novillos fistulados en rumen, alimentados con 80% heno de alfalfa y 20% maíz molido. Durante la incubación se midió la presión (psi) del espacio libre de las botellas a tiempos regulares y se calculó la producción de gas por regresión presión y volumen. Se contó con blancos (IR y *buffer* sin sustrato) que se utilizaron para corregir los datos obtenidos. Los residuos fueron recuperados de la siguiente manera: FC: se filtró el contenido en crisoles de peso conocido; Cf: se transfirió el contenido a tubos de centrifuga de peso conocido, se centrifugó (11000 g x 15 min) y descartó el sobrenadante (Ungerfeld *et al.*, 2019); FB: se filtró el contenido en bolsas Ankom F57 de peso conocido (Wawrzkievicz, 2010); InF57 e In1020 se extrajeron las bolsas completamente con el residuo contenido en ellas (Bizzuti *et al.*, 2023). Sobre el residuo se realizaron análisis de materia seca (MS) y se calculó la digestibilidad de la MS. Se estableció una escala cualitativa para evaluar la complejidad de los métodos (1=alta; 2=media; 3=baja) según: tiempo requerido, número de personas necesario, equipamiento y

materiales que demanda y costo. Se realizó un diseño completamente aleatorizado con 10 unidades experimentales (botellas) por método. Los resultados se analizaron mediante ANOVA y las medias se contrastaron por test LSD Fisher ($\alpha=0,05$).

Resultados y discusión

La producción de gas (mL /g MS incubada) con el FC presentó valores acordes a los obtenidos históricamente en el laboratorio y los métodos Cf y FB no presentaron diferencias con el FC ($P>0,05$; Tabla 1). Mientras que con los métodos InF57 e In1020, donde el sustrato estaba dentro de la bolsa, la producción de gas fue significativamente menor ($P<0,05$; Tabla 1). La mayor digestibilidad de la MS se observó con el método In1020, lo que puede indicar que parte del sustrato se haya perdido en el medio de incubación en lugar de recuperarse. Mientras que no se detectaron diferencias entre los métodos FC, FB e InF57 ($P>0,05$; Tabla 1), pero el error de FC fue mayor que los otros dos métodos. La producción de gas en relación con la digestibilidad en FC resultó significativamente diferente a todos los demás que, a su vez, no difirieron entre ellos (Tabla 1). Los métodos FC y Cf resultaron de mayor complejidad que los demás (Tabla 1). Si bien el método FB tiene una complejidad intermedia (por costo y tiempo requerido), el proceso es más ágil, con valores de producción de gas y digestibilidad de menor variabilidad con el tipo de sustrato utilizado en el estudio.

Conclusión

La recuperación del residuo no digerido es un paso esencial para determinar la digestibilidad. Los métodos evaluados mostraron ventajas y desventajas respecto a la confiabilidad del resultado y la complejidad de su determinación. Ninguno resultó satisfactorio en todos los parámetros considerados, pero en cuanto al sustrato utilizado y el procedimiento de incubación evaluado con un solo inóculo, el método de mejor desempeño fue el FB que recupera el residuo a través del filtrado con bolsas Ankom F57.

Bibliografía

Bizzuti BE *et al.* (2023). *Agronomy* **13**, 1043.
Ungerfeld, EM *et al.* (2019). *Microorganisms* **7** 115.
Wawrzkievicz M. (2010). Tesis de doctorado. EPG. Alberto Soriano, FAUBA.

Tabla 1. Producción de gas, digestibilidad de la materia seca y complejidad determinada por el método de recuperación de residuo no digerido en ensayos de producción de gas *in vitro*. Se muestran valores promedio \pm E.E (n=10). Letras diferentes indican diferencias significativas entre métodos ($P<0,05$).

Variable	FC	Cf	FB	InF57	In1020
Gas total (mL/g MS incubada)	236,7 \pm 1,50 a	237,2 \pm 2,13 a	231,0 \pm 4,68 a	182,3 \pm 4,63 c	220,0 \pm 2,89 b
Gas total (mL/g MS digerida)	428,6 \pm 49,23 a	345,3 \pm 28,45 b	340,4 \pm 7,56 b	280,8 \pm 4,93 b	285,0 \pm 3,19 b
Digestibilidad MS (g/g)	0,60 \pm 0,047 c	0,73 \pm 0,064 ab	0,68 \pm 0,008 abc	0,65 \pm 0,007 bc	0,77 \pm 0,005 a
Tiempo	1	1	2	3	3
Nº de personas	1	2	2	3	3
Materiales	1	1	2	3	3
Costo	3	3	1	1	2

MS=Materia seca, FC=Filtrado en crisoles, Cf=Centrifugado, FB=Filtrado en bolsa, InF57=Incubación en bolsa F57, In1020=Incubación en bolsa 1020, 1=Complejidad alta, 2=Complejidad media, 3=Complejidad baja