



UNIVERSIDAD DE BURGOS

**DEPARTAMENTO DE BIOTECNOLOGÍA Y CIENCIAS
DE LOS ALIMENTOS**

**“Estudio de alternativas nutricionales para la sustitución del
óxido de zinc en lechones recién destetados.”**

TESIS DOCTORAL.

LAURA MIRANDA GUERRA.

BURGOS, 2023.

**“Estudio de alternativas nutricionales para la sustitución del
óxido de zinc en lechones recién destetados.”**

Memoria para optar al grado de Doctor por la
Universidad de Burgos en el programa de
Doctorado de Avances en Ciencia y
Biotecnología Alimentaria presenta:

LAURA MIRANDA GUERRA

Burgos, 2023.



UNIVERSIDAD DE BURGOS

DEPARTAMENTO DE BIOTECNOLOGÍA Y CIENCIA DE LOS ALIMENTOS.

Dña. SAGRARIO BELTRÁN CALVO, Catedrática de Ingeniería Química de la
Universidad de Burgos.

CERTIFICA:



UNIVERSIDAD DE BURGOS

DEPARTAMENTO DE BIOTECNOLOGÍA Y CIENCIA DE LOS ALIMENTOS.

D. José Manuel Benito Moreno, coordinador del programa de doctorado “Avances en Ciencia y Biotecnologías Alimentarias” de la Universidad de Burgos,

CERTIFICA:

El trabajo presentado ha sido desarrollado en el seno de la empresa 3F Feed & Food en las condiciones de un doctorado industrial con la ayuda del Ministerio de Ciencia e Innovación para la realización de doctorados industriales con número de referencia DIN2018-009987.

AGRADECIMIENTOS:

A mis directores de tesis, Mario García por su gran apoyo durante todos estos años, por enseñarme cada día, por dejarme aprender tanto de él, por hacerme creer que yo podía hacerlo, por confiar siempre en mí, por formarme para intentar ser una gran profesional y por brindarme la oportunidad de realizar el Doctorado Industrial en 3F Feed&Food. A Pedro Medel por su enorme dedicación hacia mí durante estos años, por adentrarme en el mundo de la investigación del que es un gran profesional y referente, por formarme desde cero y por sus incansables ganas de que siguiera aprendiendo todo lo que pudiera llegando incluso a dedicar sus viernes por la tarde a enseñarme nutrición animal. Sin duda, sin vosotros esto no habría sido posible. A María del Pino Pérez por darme la oportunidad de empezar mi camino profesional en la Universidad Católica de Ávila.

A mis compañeros de la Universidad Católica de Ávila, María del Monte por ser una de las personas que más ha confiado en mí desde el principio, por apoyarme incondicionalmente en todas las decisiones que tomaba y por empujarme siempre a dar un paso más. A Cristina González, mi compañera desde los inicios, por enseñarme todos los conocimientos que he necesitado, por estar disponible para ayudarme siempre, desde hacer cálculos de estequiometría hasta ir a una granja a las seis de la mañana en pleno diciembre. A mis compañeros de la fábrica 3F Feed&Food porque siempre consiguen sacarme una sonrisa cuándo más lo he necesitado.

A Alfonso Fuentetaja de COPESE por su ayuda en todas las pruebas de campo que realicé y a sus ganas de que aprendiera lo máximo en las granjas.

A Nuria Canibe por la oportunidad que me dio de realizar una estancia en el centro de investigación de Foulum (Universidad de Aarhus), por su gran profesionalidad y vocación por la investigación y por transmitirme todos sus conocimientos sobre microbiología e inmunología. Gracias por hacerme sentir como en casa.

A mis padres y hermano, por hacerme creer siempre que puedo conseguir todo lo que me proponga. A Rafa, por tus ánimos cuando me veía incapaz de conseguirlo. Ha sido mi mayor apoyo en esta aventura, sin el cual no hubiera sido capaz de llegar hasta aquí.

ÍNDICE GENERAL.

AGRADECIMIENTOS:.....	6
ÍNDICE GENERAL.....	7
CAPÍTULO 1. INTRODUCCIÓN GENERAL Y OBJETIVOS.....	10
1.1. Introducción.....	11
1.2. Sistema inmune y mecanismo de defensa frente a agentes patógenos.....	12
1.3. Factores infecciosos y no infecciosos relacionados con la PWD.....	14
1.4. Uso de óxido de zinc y de antibióticos para tratar la PWD.....	15
1.5. Búsqueda de alternativas al óxido de zinc.....	18
1.6. Reducción de los niveles de proteína.....	19
1.7. Fibra.....	20
1.8. Aditivos.....	21
1.9. Aceites esenciales.....	26
1.6. Bibliografía.....	31
CAPITULO 3. “Efecto del nivel de proteína y de la sustitución de óxido de zinc por una mezcla compuesta por ácidos orgánicos, mono, di y triglicéridos de ácidos orgánicos de cadena corta y media y aceites esenciales, sobre la productividad y la salud de lechones recién destetados”.....	50
3.1. Introducción.....	51
3.2. Material y métodos.....	54
3.3. Resultados.....	59
3.4. Discusión.....	63
3.5. Bibliografía.....	65

CAPÍTULO 4. “Efecto de la sustitución de óxido de zinc por una mezcla de ácidos orgánicos, mono, di y triglicéridos de ácidos orgánicos de cadena corta y media y aceites esenciales, sola o en combinación con ácidos húmicos, sobre la productividad y salud de lechones recién destetados”..... 71

4.1. Introducción.....	72
4.2. Material y métodos.....	75
4.3. Resultados.....	80
4.4. Discusión.....	85
4.5. Bibliografía.....	87

CAPITULO 5. “Efecto de la sustitución de óxido de zinc por diferentes mezclas de ácidos orgánicos, mono, di y triglicéridos de ácidos orgánicos de cadena corta y media y aceites esenciales, sobre la productividad y la salud de lechones recién destetados”. 91

5.1. Introducción.....	92
5.2. Material y métodos.....	95
5.3. Resultados.....	100
5.4. Discusión.....	104
5.5. Bibliografía.....	106

CAPITULO 6. “Efecto de la suplementación de concentrados de fibra insoluble, triglicéridos de ácido butírico, mono, di y triglicéridos de ácido láurico y mirístico a una dieta suplementada con ácidos orgánicos, mono, di y triglicéridos de ácidos orgánicos de cadena corta y media y aceites esenciales sobre la salud y productividad de lechones recién destetados”..... 110

6.1. Introducción.....	111
6.2. Material y métodos.....	116
6.3. Resultados.....	121
6.4. Discusión.....	125
6.5. Bibliografía.....	127

CAPÍTULO 7. DISCUSIÓN FINAL Y CONCLUSIONES.....	133
7.1. Discusión final.....	134
7.2. Conclusiones.....	137

CAPÍTULO 1. INTRODUCCIÓN GENERAL Y OBJETIVOS.

El estudio para la realización de esta tesis doctoral se hizo entre los años 2017-2019, en las condiciones de un doctorado industrial con la ayuda del Ministerio de Ciencia e Innovación para la realización de doctorados industriales con número de referencia: DIN2018-009987. Todas las pruebas de campo se hicieron entre los años 2017 y 2019. El objetivo principal que se buscaba era quitar el óxido de zinc en la segunda semana post destete como paso intermedio a la eliminación total. En las condiciones de campo no era posible eliminar el óxido de zinc desde el destete, pero dado que el consumo de pienso con óxido de zinc las dos primeras semanas posteriores al destete los animales apenas comían, quitarlo en la segunda semana post destete fue un avance significativo.

1.1. Introducción.

Uno de los principales problemas en producción porcina son las diarreas post destete (PWD), debido a los altos costes de manejo y las elevadas pérdidas de productividad que conlleva. El destete es un proceso muy complejo para los lechones debido a que no tienen el tracto gastrointestinal (GIT) ni el sistema inmunológico desarrollados (Bailey et al., 2005). Varios estudios han demostrado que el destete produce cambios en la morfología del sistema digestivo del lechón (Hampson, 1986; Miller et al., 1986; Kelly et al., 1991; Pluske et al., 1996). El revestimiento epitelial del intestino delgado tiene proyecciones en forma de dedos conocidas como vellosidades, que ayudan a aumentar la superficie para los procesos de absorción y digestión (Zhang y Xu, 2003). Además, la mucosa del intestino delgado tiene glándulas tubulares que se encuentran en la base de las vellosidades, conocidas como criptas (Zhang y Xu, 2003). Las criptas contienen células madre epiteliales necesarias para la repoblación de células epiteliales (Llyod y Gabe, 2008). Para que la función del intestino delgado sea óptima, son necesarias vellosidades largas, pero durante el destete se produce una atrofia de las vellosidades e hiperplasia de las criptas debido a la reducción en la ingesta de alimento (Pluske et al., 1997). El intestino grueso se compone del ciego, el colon y el recto (Zhang y Xu, 2003), entre las funciones fisiológicas destacan la absorción de líquidos y electrolitos y la formación de una barrera física contra la invasión microbiana (Williams et al., 2007; Zhang y Xu, 2003). La alteración de estas funciones puede desempeñar un papel importante en la aparición de PWD. La mucosa del intestino grueso está revestida de criptas que, a diferencia del intestino delgado, carece de vellosidades. En el estudio de Castillo et al., (2007) observaron que con el destete disminuyó la densidad de las criptas y aumentó el índice mitótico en el ciego de los lechones. El destete produce una reducción en la capacidad de absorción del colon como explican en el estudio de Boudry et al., (2004). Según los datos disponibles parece que una

combinación de alteraciones en la estructura y la función de absorción del intestino grueso podría contribuir al aumento de la incidencia de la PWD (Hopwood y Hampson, 2003).

La parte más crítica del destete es la transición del consumo de alimento líquido (leche) a alimento sólido (pienso). Además, la baja secreción de ácido clorhídrico en el estómago hace que el pH no se encuentre en valores entre 2 y 3,5, que es el pH óptimo para transformar el pepsinógeno en pepsina. (Nowak et al., 2021). Es importante controlar que el pH esté por debajo de 6 ya que por encima de ese valor el proceso queda completamente inhibido (Kil et al., 2011). Además, la baja ingesta de alimento provoca reducción en la producción de enzimas (Dong y Pluske, 2007), lo que provoca que el lechón no esté preparado para ingerir grandes cantidades de alimento (Lallés et al., 2004; Laine et al., 2008). Todas estas condiciones dan lugar a un mayor riesgo de PWD (McCracken et al., 1999; Spreeuwenberg et al., 2001), con mayor frecuencia, durante las dos semanas posteriores al destete (Dubreuil, 2017).

1.2. Sistema inmune y mecanismo de defensa frente a agentes patógenos.

La estructura del sistema digestivo funciona como defensa contra los microorganismos patógenos protegiendo la pared intestinal de agentes infecciosos (Pelaseyed et al., 2014). La mucosa forma parte de la capa epitelial y protege frente de microorganismos patógenos y absorbe nutrientes (Lærke & Hedemann, 2012). La capa epitelial consta de una sola fila de células conectadas por estrechas uniones creando una barrera que evita que los agentes infecciosos entren en la pared intestinal (Rubin & Shaker., 2015). La capa epitelial está formada por cuatro tipos de células principalmente: enterocitos absorbentes, células calciformes, células enteroendocrinas y células de Paneth. La capa de células formada por enterocitos consigue una mayor superficie de absorción gracias a las microvellosidades que posee (Lærke & Hedemann, 2012). Los otros tres tipos de células epiteliales tienen funciones secretoras, las células calciformes secretan mucinas (Pelaseyed et al., 2014), las células enteroendocrinas secretan hormonas peptídicas reguladoras de la función digestiva (Egerod et al., 2012). y, por último, las células de Paneth secretan péptidos antimicrobianos, que provocan la inhibición bacteriana (Meyer-Hoffter et al., 2008).

El sistema inmunológico se compone del sistema innato y el sistema adaptativo. El sistema innato, con el que nace un organismo, reacciona rápidamente ante cualquier agente extraño. Cuando los agentes patógenos penetran en la capa de mucosa del sistema digestivo se activa el sistema inmunológico innato interno, lo que incluye la generación de diferentes células derivadas de las células madre que se encuentran en la médula ósea (Hansen y

Simonsen, 2018), llamados macrófagos y neutrófilos, que son fagocitos que engullen bacterias y restos de células (fagocitosis) eliminando así los agentes patógenos. Los neutrófilos están completamente maduros cuando se liberan de la médula ósea, por tanto, son dominantes durante la fase aguda de la infección. Por otro lado, los macrófagos son monocitos maduros que migran al tejido y tienen un papel importante durante el proceso de inflamación (Stokes et al., 2004). Como los macrófagos están en el tejido y los neutrófilos se encuentran libremente en la sangre, los macrófagos son los primeros en actuar frente a una infección. Cuando los macrófagos empiezan a luchar contra una infección, secretan quimiocinas que atraen neutrófilos a través de la pared celular (quimiotaxis) en la zona inflamada (Cominelli et al., 2009). La cantidad de fagocitos en el tejido aumenta rápidamente, por tanto, existe un mayor riesgo de aumento en los niveles de citocinas. Se inicia la secreción de citocinas proinflamatorias, las cuales inducen la inflamación e inician la secreción de iones y agua (Duque y Descoteaux, 2014; Tsai et al., 2017). La secreción de agua es un mecanismo de defensa del huésped para eliminar el agente patógeno del sistema gastrointestinal (Tsai et al., 2017), por tanto, la diarrea podría no ser solo una respuesta negativa ante la presencia de un agente patógeno.

El sistema adaptativo, es el que adquiere un organismo después de la exposición a una enfermedad provocada por un agente patógeno, reacciona más lentamente que el sistema innato, pero de manera más eficiente (Cominelli et al., 2009). Consiste en la inmunidad que se consigue mediante la generación de linfocitos B y T. Los linfocitos B son células vírgenes maduras que elaboran anticuerpos para luchar contra bacterias patógenas (Mantis et al., 2011). Los linfocitos T son células que migran al timo para madurar a células vírgenes (Stokes et al., 2004) y destruyen las propias células del cuerpo que han sido infectadas por virus o bacterias. La maduración de los linfocitos da como resultado la formación de receptores de unión de un antígeno en la superficie celular. El receptor de los linfocitos B, conocido como anticuerpos, reconoce una molécula de antígeno completa, mientras que el receptor de linfocitos T solo reconoce péptidos de un antígeno unido a un complejo principal de histocompatibilidad en la superficie, por ejemplo, de macrófagos, pero mientras no hayan encontrado el antígeno específico no tienen actividad inmune (Sjaastad et al., 2010).

Se ha observado que el número de células inmunitarias aumenta los días posteriores al destete (Juul-Madsen et al., 2010) y en consecuencia aumenta la respuesta inmunológica (Pié et al., 2004; Hu et al., 2013). Al nacer los lechones están protegidos por la inmunidad

pasiva que obtienen a través de la leche de la cerda, ya que su sistema inmunológico todavía está en desarrollo, por tanto, este aumento en el número de células inmunitarias puede ser debido a un desarrollo normal del sistema inmunológico del lechón. También se puede deber a la presencia de agentes patógenos en el sistema digestivo (Piè et al., 2004).

1.3. Factores infecciosos y no infecciosos relacionados con la PWD.

El sistema digestivo del lechón juega un papel importante en la PWD producida tanto por factores infecciosos como no infecciosos. Generalmente la PWD, se asocia con la proliferación de *Escherichia coli*, que provoca retrasos del crecimiento, deshidratación y la muerte de animales en un alto porcentaje (Callesen et al., 2007). También pueden dar lugar a PWD *Salmonella typhimurium* y *Clostridium perfringens* que junto la proliferación de otras bacterias patógenas como *Streptococcus suis* o *Staphylococcus aureus* pueden atacar al lechón dejándole el sistema inmunitario muy débil, derivando en muchos casos en la muerte del animal.

Hay muchos factores no infecciosos que favorecen la PWD, por ejemplo: el cambio de alimento (leche a pienso), el cambio de ambiente (mezcla de camadas pérdida del contacto con la madre), el manejo, la higiene etc. Entre los factores principales no infecciosos se encuentra el cambio de alimento, el lechón tiene que familiarizarse en un periodo de tiempo muy corto a una alimentación completamente desconocida que unido al estrés que supone el cambio de camadas y la pérdida de contacto con la madre hace que el animal no coma las primeras horas posteriores al destete. Para imitar el destete natural una opción es ofrecer a los lechones alimentación progresiva desde los primeros días hasta el día del destete lo que significa que el cambio de alimentación es menos radical y están más familiarizados con el alimento sólido cuando llega el momento del destete (MacCracken et al., 1999). Esta adaptación gradual beneficia el consumo de pienso los primeros días posteriores al destete y además mejora el estado del sistema digestivo que hace que los lechones sean menos vulnerables a la aparición de la PWD.

Además, debido a la falta de apetito las primeras horas posteriores al destete, se produce una atrofia en las vellosidades intestinales lo que reduce la capacidad de absorción en el intestino delgado y se producen los cambios en la actividad enzimática, comentados anteriormente (Boudry et al., 2004; Heo et al., 2012).

La composición de la dieta postdestete también tiene un papel importante, donde un contenido alto de proteína bruta (PB) y ciertos carbohidratos pueden aumentar el riesgo de

PWD (Mateos et al., 2006; Nyachoti et al., 2006; Heo et al., 2009; Pascoal et al., 2012). Las proteínas son cadenas de aminoácidos unidos entre sí por enlaces peptídicos que son hidrolizados por diferentes proteasas: la pepsina, secretada en el estómago y la tripsina y quimiotripsina en el páncreas (Le Bellego & Noblet, 2002). La PB que no ha sido digerida llega al intestino grueso fermenta y libera compuestos como el NH_3 que puede tener un efecto negativo sobre las células epiteliales alterando la función de la mucosa (Sun et al., 2020).

La reducción consumo de pienso del lechón en las primeras horas después del destete, se reduce al mejorar la uniformidad de la camada y aumentar el peso de los lechones al destete (Goodband et al., 2006). Los problemas se inician en camadas con un alto número de lechones con pesos inferiores a los 3,5 kg, debido a la falta de uniformidad de peso a la entrada a cebadero. Por el contrario, en camadas con animales que alcanzan pesos elevados al destete tendrán una buena uniformidad (Mateos et al., 2021). Por tanto, uno de los objetivos para mejorar este problema en lechones recién destetados sería iniciar de forma rápida el consumo de pienso (Le Dividich y Seve, 2000).

Por otro lado, es importante destacar que hay muchos factores que pueden controlarse antes de la llegada del lechón al box, para reducir la aparición de PWD. Como explica la Dr. Sørense (2023), la higiene es uno de los principales puntos para disminuir la aparición de PWD, poniendo especial atención es las tuberías, que se deben desinfectar antes del destete. El box donde va a llegar el lechón tras el destete debe estar perfectamente limpio y desinfectado, sin humedad en el comedero ya que a la llegada del lechón cuando se active el calor las bacterias que hubiera crecerían siendo un elevado foco de infección para el animal.

1.4. Uso de óxido de zinc y de antibióticos para tratar la PWD.

El problema de la PWD se ha tratado a lo largo de los años complementando las dietas con el uso de antibióticos, lo que ha derivado en la aparición de resistencias de las bacterias a los antimicrobianos (Nhung et al., 2016). Dicha preocupación conllevó a la prohibición total de los antibióticos como promotores del crecimiento en alimentación animal en la Unión Europea en enero de 2006 (Reglamento (EC) N° 1831/2003).

Aparte de los antibióticos, se han utilizado oligoelementos como el zinc (en forma de óxido de zinc) para el control de diarreas. El óxido de zinc es una molécula anfótera y casi insoluble en agua, pero tiene una mayor solubilidad a pH ácido. Se ha usado a dosis muy

superiores a las utilizadas como aditivo nutricional (150 ppm vs 3.000 ppm), por lo que su uso se considera terapéutico. El zinc usado a dosis farmacológicas es de uso habitual dentro y fuera de la Unión Europea y fuera de él. Varios estudios han demostrado que su uso tiene una influencia positiva en la morfología del GIT, como explican en el estudio de Li et al., (2001), donde investigaron la respuesta morfológica de lechones destetados con 21 días de edad alimentados con una dieta suplementada con zinc durante los 11 días posteriores al destete. Los resultados obtenidos explicaron que el alto contenido en zinc mejoró la concentración y el grosor de la mucosa y la altura de las vellosidades intestinales, lo que aumentó la capacidad de absorción y el rendimiento del crecimiento. Por otro lado, el uso del óxido de zinc a dosis elevadas puede dar lugar a la aparición de efectos tóxicos debido a una acumulación excesiva de zinc en tejidos como el del riñón, del páncreas o del hígado que pueden experimentar una sobrecarga de zinc (Burrough et al., 2019).

Además, el óxido de zinc se ha usado durante años como promotor de crecimiento ya que estimula la secreción gástrica grelina, la hormona que estimula el hambre y que controla la ingestión de alimento (Yin et al., 2009). Varios estudios han demostrado que el uso óxido de zinc en dosis farmacológicas (2.000-3.000 ppm) disminuyen la aparición de la PWD (Cardinal et al., 2006; Ou et al., 2007; Zhang and Guo., 2009; Shen et al., 2014), pero la acción del óxido de zinc sobre bacterias patógenas genera debate. En el estudio de Højberg et al., (2005) demostraron que la suplementación de piensos de lechones con 2.500 ppm de óxido de zinc dio lugar a una disminución de la población de bacterias beneficiosas como bacterias ácido-lácticas y, sin embargo, aumentó la población de bacterias patógenas como coliformes. Los autores concluyeron que el efecto del óxido de zinc no era selectivo frente a bacterias como *Escherichia coli* sino que su efecto se basaba en la reducción de la población y actividad de bacterias Gram positivas. Al igual que en el estudio de Shen et al., (2014) no encontraron ninguna evidencia de que el óxido de zinc tuviera un efecto antibacteriano directo sobre la prevalencia de *Escherichia coli* y observaron que el número de bacterias ácido-lácticas disminuyó significativamente. Las bacterias ácido-lácticas producen ácido láctico, reduciendo así el pH que evita la colonización de patógenos y se consideran importantes para la mejora de la salud intestinal (Lallès et al., 2007). Siguiendo en la misma línea, en un ensayo realizado por la Universidad Autónoma de Barcelona, Molist et al., (2011), observaron que el incremento de la concentración de *Escherichia coli* en las heces de lechones recién destetados se producía en mayor medida cuando la dieta complementada con óxido de zinc tenía un alto nivel de fitatos procedentes de cereales o subproductos, como, por ejemplo, el salvado de trigo. Los fitatos forman compuestos

insolubles disminuyendo su disponibilidad (Champagne y Fisher, 1990). Los autores sugirieron que la formación de estos complejos en el intestino puede limitar la actividad del zinc sobre las bacterias patógenas intestinales, permitiendo la proliferación de *Escherichia coli*. En estos casos, propusieron suplementar la dieta con la enzima fitasa para evitar la formación de estos compuestos insolubles.

Sin embargo, hay que destacar la importancia nutricional del zinc como oligoelemento en el organismo del lechón para funciones como la expresión de genes, estabilización de la estructura de las proteínas (Coleman, 1992), replicación celular, estabilización de las membranas celulares y el citoesqueleto y en la estructura y función de las hormonas (como la insulina). Consecuentemente, el zinc es necesario por un amplio abanico de funciones bioquímicas, inmunológicas y clínicas (Hotz y Brown, 2004). Según Davin et al., (2013) el destete provoca un descenso en el plasma de los niveles de zinc, teniendo el punto más bajo a los 2 días post destete, por tanto, el zinc es un nutriente limitante para el crecimiento y la respuesta inmune de los lechones. Por consecuente, sería necesario incorporar una fuente mineral de zinc en el pienso para satisfacer las necesidades de zinc de los lechones tras el destete (Bikker et al., 2011).

Las altas concentraciones de zinc en la alimentación animal pueden tener un impacto en el desarrollo de la resistencia a los antimicrobianos (Bednorz et al., 2013; European Food Safety Authority FEEDAP Panel, 2014). En el estudio de Slifierz et al. (2015) mostraron que las dosis farmacológicas de óxido de zinc podían aumentar la resistencia y prevalencia de *Staphylococcus aureus* resistente a la meticilina en lechones recién destetados. Además, puede regular la expresión de genes que modifican la respuesta inmune de los lechones (Dębski, 2016). Por otro lado, el uso de estiércol procedente de instalaciones que emplean dosis farmacológicas de óxido de zinc tiene altas concentraciones de zinc (Poulsen and Larsen, 1995; Meyer et al., 2002). Debido a las propiedades fisicoquímicas el zinc es un compuesto que no se degrada, por tanto, si la dispersión de estiércol continúa a largo plazo sobre cultivos, puede aumentar su concentración en suelo y agua subterráneas (Monteiro et al., 2010; Gräber et al., 2005). En la Figura 1. Riegos del uso de dosis farmacológicas del óxido de zinc en lechones recién destetados (Bonetti et al., 2021). resumen los principales riesgos del uso del óxido de zinc a dosis farmacológicas.

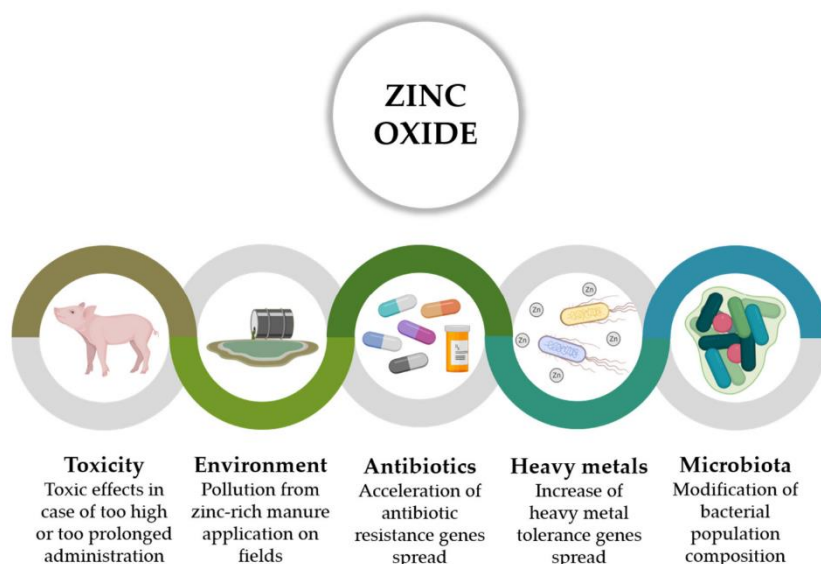


Figura 1. Riesgos del uso de dosis farmacológicas del óxido de zinc en lechones recién destetados (Bonetti et al., 2021).

Por estas razones el Comité de Uso Veterinario de Medicamentos de la Agencia Europea de Medicamentos impuso la prohibición de administrar dosis farmacológicas de zinc a partir de junio del 2022 (European Commission, 2017). Siguiendo el reglamento CE 1334/2003 y 1095/2016 el óxido de zinc sólo se podrá utilizar como oligoelemento para piensos con el límite de 150 ppm de zinc total en lechones y cerdas (European Commission 2003, 2016).

1.5. Búsqueda de alternativas al óxido de zinc.

Con la retirada del uso de óxido de zinc a dosis farmacológicas se ha observado que el problema no es nutricional, la PWD aparece por un problema de patología, hay que tener especial cuidado en la higiene, manejo y condiciones sanitarias de los lechones.

Uno de los puntos más interesantes sería reducir la carga microbiana en ciertos periodos clave en el ciclo de la vida del lechón poniendo énfasis en la higiene, sanidad, manejo de la explotación, reduciendo situaciones de estrés e implementar programas de prevención incluyendo las vacunaciones en granja.

Las propuestas principales para evitar la aparición de PWD son, destetar más tarde (a 28 días mejor que a 21 días), ofrecer pienso mientras está con la madre, conseguir que el lechón coma pienso antes del destete va a reducir el nivel de estrés del animal el día del destete ya que conoce el alimento alternativo a la leche materna, intentar no mezclar lechones de diferentes camadas para reducir estrés (en el destete, si es posible, sacar a la madre de la paridera y dejar a los lechones).

1.6. Reducción de los niveles de proteína.

Hoy en día, con la ausencia del uso de antibióticos y del óxido de zinc, como promotores de crecimiento el objetivo no es buscar altos rendimiento en el crecimiento del lechón, sino reducir el exceso de nutrientes en el intestino grueso, especialmente aquellos con altas concentraciones de nitrógeno (Mateos et al., 2021). Uno de los problemas más frecuentes en la dieta post destete es la presencia de exceso de proteína sin digerir en el intestino grueso. Esta proteína fermenta en el ciego, y se producen compuestos ricos en nitrógenos como aminos, amoníaco, etc, que alcalinizan los tejidos (De Lange et al., 2010; O'Doherty et al., 2017; Yu et al., 2019). La reducción de la PB (Opapeju et al., 2008; Silva et al., 2020) tiene como ventaja nutricional la reducción de la pérdida de energía por diseminación de la misma, además el animal consume menor contenido de agua, por lo que hay menos volumen de purines y menor contenido de nutrientes en el mismo.

El objetivo es reducir la concentración de PB en la dieta, pero es necesario utilizar materias primas donde la PB sea digestible, de esta forma se conseguirá que llegue menor porcentaje de PB sin digerir al intestino grueso. Se deben asegurar las necesidades de los aminoácidos esenciales ya que la ausencia de aminoácidos limitantes puede producir problemas en procesos metabólicos y reducción del crecimiento. Tal y como explica la Dr. Sørensen en sus estudios, observaron que la reducción de PB en un 10-12% ayuda a prevenir la PWD además favorece una buena maduración del tracto gastrointestinal y destacan la importancia del uso de una PB de calidad y fácilmente digerible (Sørensen, 2023).

La PB no digerida que llega al intestino grueso puede ser fermentada por bacterias proteolíticas, lo que da como resultado la proliferación de bacterias patógenas (Pluske et al., 2002; Mateos et al., 2021). Una alimentación con una dieta baja en proteínas (LP) después del destete puede tener un efecto reductor en la aparición de PWD (Le Bellego y Noblet, 2002; Wellock et al., 2006; Opapeju et al., 2009, Powell et al., 2011; Lynegaard et al., 2021), ya que la cantidad de proteína sin digerir en el intestino grueso se reduce.

De acuerdo con Wang et al. (2018) hay estudios que explican que las dietas LP reducen la incidencia de PWD y mantienen la salud intestinal (Callesen et al., 2007; Wellock et al., 2007; Yue et al., 2008; Wu et al., 2015). Además, en el estudio de Heo et al. (2008) observaron que los lechones alimentados con dietas LP suplementadas con aminoácidos esenciales, tuvieron baja incidencia de PWD a partir del octavo día posterior al destete y el

rendimiento productivo fue similar al de los animales alimentados con dietas altas en proteína.

Es necesaria la realización de más estudios con dietas LP durante los primeros días posteriores al destete para poder asegurar que con bajos niveles de PB los lechones cubren sus necesidades de aminoácidos esenciales, aunque en la mayoría de los casos se necesite suplementación de éstos en la dieta (Fabian et al., 2002, 2004; Collins et al., 2007; Qin et al., 2015; Kampman-van de Hoek et al., 2016). Con la bibliografía existente no se asegura que dietas con niveles bajos de PB no tengan ningún efecto negativo sobre el rendimiento productivo del lechón, siendo muy importante asegurar la presencia de todos los aminoácidos esenciales.

1.7. Fibra.

La fibra está formada por polímeros de carbohidratos que son total o parcialmente fermentados en el intestino grueso (Rebello et al., 2016). Sus efectos dependen del tamaño de partícula, solubilidad, viscosidad y capacidad de retención de agua. Los productos fibrosos se diferencian por el contenido de polisacáridos no amiláceos que junto con la lignina componen la fibra dietética. En nutrición animal tiene mucha importancia la fibra insoluble ya que varios estudios han demostrado que aumenta la motilidad intestinal, beneficiando así el movimiento de las vellosidades intestinales y con ello, mejorando la digestibilidad de los nutrientes (Sun et al., 2021). La fibra insoluble está formada por componentes de la pared celular que atraviesan el tracto gastrointestinal sin verse afectados por la hidrólisis enzimática hasta llegar al intestino grueso, donde sirven como sustrato para la fermentación bacteriana (Jha et al., 2019). Las fuentes de fibra insoluble más interesantes para alimentación animal son la cascarilla de avena, cascarilla de soja, el salvado de trigo y los concentrados de lignocelulosa (Flis et al., 2017).

Según el estudio de Jha and Berrocoso (2016) las bacterias intestinales pueden producir ácidos orgánicos de cadena corta al fermentar la fibra insoluble presente en la dieta y, por tanto, mejorar la función inmunológica y salud intestinal del lechón (Zhao et al. 2018). Los estudios de Wu et al. (2018) y Jha et al. (2019) explican el efecto beneficioso de la fibra en la microbiota intestinal e inmunidad de lechones recién destetados. Otros estudios explican que la adición de fibra en la dieta de los lechones las primeras semanas tras el destete mejora el rendimiento del crecimiento (Sun et al., 2021) el consumo de pienso y la ganancia media diaria de los lechones. Además, en el estudio de Flis et al., (2017) observaron que la

adición de fibra insoluble mejoró la consistencia fecal, mejorando la salud gastrointestinal ya que disminuía la incidencia de PWD.

1.8. Aditivos.

Otra estrategia nutricional es el uso de aditivos. Dentro de esta estrategia, cobra un papel relevante los ácidos y los aceites esenciales. Algunos ácidos pertenecen al grupo de los conservantes (Registro de aditivos para piensos de la Unión Europea de acuerdo con el Reglamento 1831/2003) entre los cuales existen varias alternativas potenciales como los ácidos inorgánicos y orgánicos. Los aceites esenciales pertenecen al grupo de aromatizantes (Registro de aditivos para piensos de la Unión Europea de acuerdo con el Reglamento 1831/2003).

- **Ácidos orgánicos e inorgánicos.**

Dentro de los ácidos, la principal diferencia es que los ácidos orgánicos tienen enlaces carbono-hidrógeno en su estructura, mientras que los ácidos inorgánicos no la tienen. Los ácidos orgánicos se caracterizan por su solubilidad en el agua y su caracterización de ácido débil. El principal ácido inorgánico utilizado en alimentación animal es el ácido fosfórico, sólo se utiliza como reductor del pH ya que no hay estudios que indiquen que tiene un efecto beneficioso sobre la flora gastrointestinal.

En la nutrición animal se suelen utilizar ácidos débiles de cadena corta y media (entre uno y doce carbonos), por lo que el uso de los ácidos orgánicos tiene gran protagonismo. Los mecanismos de acción de los ácidos orgánicos son entre ellos: disminución del pH y su capacidad amortiguadora, así como posibles efectos antibacterianos y antifúngicos en el alimento. Reducción del pH en el estómago debido a la liberación de iones de hidrógeno, activando el pepsinógeno y, por tanto, mejorando la digestibilidad de la proteína (Van Immerseel et al., 2006).

Se han usado en diferentes ocasiones para la acidificación del sistema digestivo que a pH bajos da como resultado una mayor secreción de enzimas digestivas y permite la transformación del pepsinógeno en pepsina, enzima que digiere la proteína. Gracias a su actividad contra los microorganismos, podrían inhibir el desarrollo de microorganismos patógenos. Además, los ácidos también podrían reducir la capacidad amortiguadora del alimento y mejorar la digestibilidad de este (Nowak et al., 2021). Con la bibliografía existente, no se puede concluir que tengan un efecto beneficioso sobre la flora gastrointestinal.

Los ácidos orgánicos (AO) son moléculas formadas por cadenas de carbono saturadas o insaturadas unidas a un grupo carboxilo. La cadena de carbono es hidrófoba y el grupo carboxilo es hidrófilo lo que le da a la molécula su naturaleza anfifílica (Churchward et al., 2018). La solubilidad de los ácidos orgánicos está determinada por la longitud de la cadena de carbono, cuanto más larga es la cadena menos soluble en agua es la molécula. Como explican en el estudio de Kim et al., (2005) los AO se caracterizan por sus propiedades acidificantes y la medida de su fuerza es la capacidad del ácido para disociar iones de hidrógeno (H^+) en disolución. El índice que determina la fuerza del ácido es la constante de disociación ácida (pK_a), que es el pH al cual un 50% del ácido está disociado. Un valor de pK_a más bajo significa propiedades acidificantes más fuertes del ácido y más iones de hidrógeno en disolución. El ácido puede penetrar la membrana celular en forma disociada o no disociada (Figura 5). La forma no disociada del AO se difunde a través de la membrana microbiana cuando el pH del citoplasma de la célula es mayor que el del entorno circundante. Para mantener el pH interno, se requiere transporte activo para expulsar protones. El pH ácido en el interior de la célula daña o modifica la funcionalidad de las enzimas, proteínas estructurales y ADN (Mani-López et al., 2012).

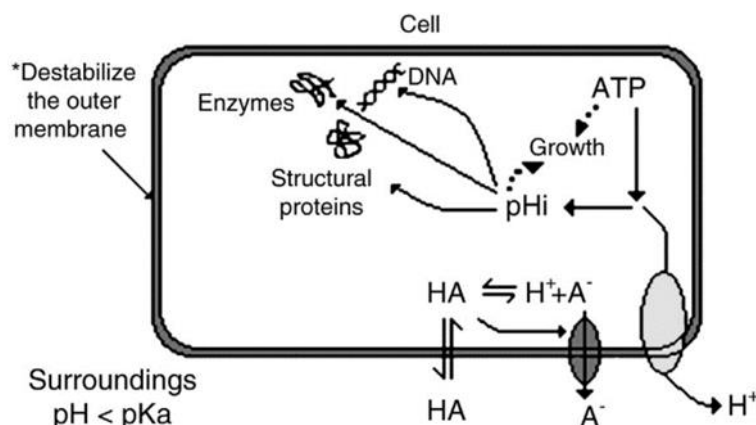


Figura 2. Efecto de los ácidos orgánicos sobre las células microbianas (Mani-López et al., 2012).

El ácido disociado bloquea las funciones de las enzimas y el sistema de transporte de nutrientes en las células del microorganismo. Además, reduce el pH del citoplasma de la célula, por lo que obliga a ser neutralizado por el sistema de amortiguamiento intracelular. Este proceso requiere mucha energía y detiene los procesos vitales, incluida la replicación del ADN que es necesaria para la multiplicación de bacterias (Kim et al., 2005). Si la célula no es capaz de mantener su pH óptimo, los órganos y las sustancias como las enzimas, el ADN o las membranas citoplasmáticas se destruyen y la célula muere (Hellweg et al., 2006).

Hay varios estudios que observaron que los AO podrían mejorar la productividad y reducir la diarrea en los lechones recién destetados, al reducir el pH de la dieta y mantener el equilibrio de la microflora (Torrallardona et al., 2007; Diao et al., 2014; Suiryarayna y Ramana, 2015). Los más utilizados son: el ácido fórmico que según Canibe et al., (2008) puede mejorar el rendimiento del crecimiento de los lechones mejorando la calidad de la salud gastrointestinal. El ácido propiónico tiene un elevado poder antibacteriano y según el estudio de Ren et al., (2019) disminuyó la inflamación del intestino reduciendo así la aparición de PWD. Del ácido butírico hay que destacar su capacidad antimicrobiana (Biagi et al., 2007) y su papel en el aumento de la producción de ácidos grasos de cadena corta. Estas acciones contribuyen a disminuir el pH del intestino y reducen la capacidad de colonización de los microorganismos patógenos, además sirve como suministro de energía para los enterocitos, favoreciendo la renovación de la mucosa intestinal (Liu et al., 2018).

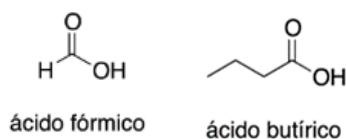


Figura 3. Estructura química del ácido fórmico y del ácido butírico.

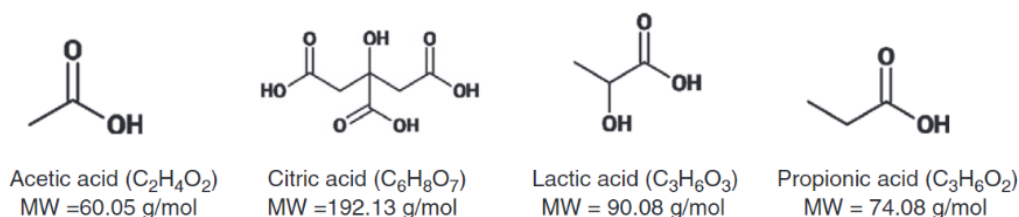


Figura 4. Estructura química del ácido acético, ácido cítrico, ácido láctico y ácido propiónico (Mani-López et al., 2012).

Por otro lado, el ácido cáprico según el estudio de Hanczakowska et al., (2011) puede tener efectos positivos en la estructura del epitelio del íleon, debido a la mejoría en la altura de las vellosidades intestinales aumentando la capacidad de absorción. Además, en este mismo estudio concluyeron que la población de *Clostridium perfringens* se vio reducida por la adición de ácido cáprico y caprílico en la dieta. Además, tal y como explican en el estudio de Skřivanová et al., 2004 el ácido cáprico tiene un efecto sobre el crecimiento de *Salmonella typhimurium*, reduciendo su actividad e inhibiendo su crecimiento. En el estudio de Hanczakowska et al., (2011) sugirieron que el ácido caprílico tiene un mejor efecto en el crecimiento de los lechones, especialmente antes de los 56 días de edad, que el ácido cáprico.

El ácido caproico también tiene poder antibacteriano inhibiendo el crecimiento de bacterias patógenas en el intestino de los lechones, particularmente las primeras semanas posteriores al destete. Según el estudio realizado por Portocarero (2022) el ácido caproico puede mejorar el índice de conversión de los lechones debido a la mejoría de la salud intestinal.

Por último, hay que destacar el efecto antimicrobiano del ácido láurico y su derivado de monoglicérido, la monolaurina (MC12). Como explican Valle-González et al., (2018), el ácido láurico se considera el ácido orgánico más inhibitorio contra bacterias Gram positivas. En el estudio de Zheng et al., (2022) concluyeron que el ácido láurico mejora la altura de las vellosidades intestinales y fomenta el crecimiento de células epiteliales en las criptas mejorando así la capacidad de absorción.

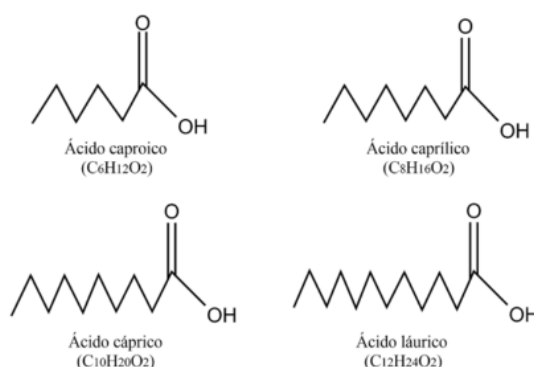


Figura 5. Estructura química del ácido caproico, ácido caprílico, ácido cáprico y ácido láurico.

Además, los iones de hidrógeno liberados reducen el pH del sistema digestivo, que crea unas condiciones óptimas para la reproducción de la microflora beneficiosa. Un pH bajo favorece el desarrollo de la flora intestinal beneficiosa, principalmente bacterias ácido-lácticas (Nowak et al., 2017).

Los ácidos orgánicos se pueden encontrar unidos a una molécula de glicerina, formando enlaces éster cada grupo alcohol con el grupo ácido dando lugar a monoglicéridos de ácidos orgánicos (MG).

Ambas moléculas tienen una fuerte actividad antibacteriana contra bacterias Gram positivas (Bergsson et al., 2001) o Gram negativas como *Escherichia coli* (Skřivanová et al., 2009), ya sea en forma libre o como MG (Yoon et al., 2018).

Dentro de los MG hay que destacar la importancia de la MC12 ya que tiene potentes efectos antibacterianos, demuestra mayor potencia (más efectivo a menor concentración), aunque contra un espectro más reducido de bacterias susceptibles (Kitahara et al., 2004).

En el estudio de Thomas et al. (2020) observaron que una mezcla de ácido láctico y MC12 mejoró la ganancia media diaria, el consumo pienso diario y el índice de conversión de los lechones las primeras semanas después del destete.

Los MG forman micelas de menor tamaño que los MCFA, lo que sugiere su actividad puede ser más potente incluso contra los virus (Phillips et al., 2021). La actividad bactericida de los ácidos depende del pH (Valle-González et al., 2018; Jackman et al., 2020), por esta razón, debido a los diferentes valores de pH a lo largo del GIT, la actividad de los MG puede mantenerse mejor que la de los ácidos ya que ésta no depende del pH.

Varios estudios han estudiado el mecanismo de acción de los OA y los MG, se cree que es el mismo ya que ambos alteran la membrana bacteriana, lo que produce un aumento de la presión osmótica y a su vez, la lisis bacteriana (Skrivanova et al., 2006). Los MCFA interrumpen la bicapa lipídica de las membranas que protegen los ácidos nucleicos virales a través de la formación de micelas. Varios autores observaron que la adición de OA o MG a la dieta del destete aumentó el consumo de pienso y la ganancia media diaria en comparación a las dietas de control sin óxido de zinc a dosis farmacológicas y en ocasiones comparable con los lechones destetados con dosis farmacológicas de óxido de zinc (Piva et al., 2002; Han et al., 2011; Wen et al., 2012). El efecto positivo en los rendimientos de los lechones destetados podría deberse al efecto de los OA y de los MG al reducir la colonización de *Escherichia coli* en el GIT, mejora la morfología del GIT y la respuesta inmunitaria reduciendo la aparición de PWD (Ma et al., 2012; Hanczakwoska et al., 2013; Martínez-Vallespín et al., 2016).

- **Ácidos húmicos y fúlvicos.**

Por último, a nivel nutricional otra posible alternativa es el uso de leonardita. Se trata de una materia prima compuesta principalmente por ácidos húmicos (AH), resultante de la descomposición de la materia orgánica, en particular, de las plantas. Este proceso conocido como humificación, una variedad de compuestos orgánicos, tales como compuestos fenólicos se sintetizan para formar polímeros complejos (Trckova et al., 2018). Los AH y sus sales están permitidos para su uso oral en caballos, rumiantes, cerdos y aves de corral para el tratamiento de diarrea, la dispepsia y las intoxicaciones aguas (EMEA 1999). Los AH protegen la mucosa del intestino, tienen propiedades antiinflamatorias, antiflogísticas, adsorbentes y antitóxicas (Trckova et al., 2015). Además, inhibe el crecimiento de bacterias y hongos disminuyendo los niveles de micotoxinas en el alimento (Islam et al., 2005).

Tienen un efecto beneficioso sobre el intestino de los animales lo que puede ayudar a mejorar la salud de los lechones en los días posteriores al destete, previendo de una excesiva pérdida de agua en el intestino para la prevención de enfermedades de gran importancia como la PWD (Trckova et al., 2017; Dell'Anno et al., 2020). Suprimen el desarrollo del estrés oxidativo y la formación de radicales libres (de Melo et al., 2016). Además, pueden mejorar el rendimiento animal y modula el metabolismo de los lípidos al aumentar el nivel de colesterol HDL en el suero sanguíneo (Trckova et al., 2018). También ayuda al transporte de iones a través de las membranas, protegiendo la mucosa intestinal, las actividades enzimáticas y facilitando la digestión y absorción de nutrientes, particularmente proteínas y minerales (Trckova et al., 2017; Trckova et al., 2018). Varios estudios han demostrado que los AH añadidos en la dieta (2-10 g/100 g de dieta) mejoran el crecimiento, rendimiento y calidad de la carne, reduciendo también las emisiones de amoníaco en los purines (Ji et al., 2006; Wang et al., 2008; Aeschbacher et al., 2012; Kim et al., 2019). Se necesitan más estudios para poder demostrar su efecto sobre la salud intestinal de los lechones las primeras semanas posteriores al destete.

1.9. Aceites esenciales.

Por otro lado, los aceites esenciales (AE), son compuestos bioactivos naturales derivados de plantas que en determinadas circunstancias han demostrado reemplazar potencialmente el uso de determinados antibióticos (Valenzuela-Grijalva et al., 2017). La dieta suplementada con AE es eficaz para mejorar el rendimiento del crecimiento, el poder antioxidante y el sistema inmunológico y mejoran la salud disminuyendo la incidencia de PWD (Ramos da Silva et al., 2021)

La actividad de los AE está relacionada con los cambios en la solubilidad de los lípidos en la superficie de la membrana células bacterianas, mostrando cierto grado de selectividad hacia *Salmonella* y *Escherichia coli* (López-Gálvez et al., 2021), alterando la estabilidad de la membrana de las células.

Además, el olor y sabor de los AE pueden mejorar el rendimiento de los animales al aumentar la palatabilidad de las dietas. Yang et al., (2019) reportan que la adición de diferentes tipos de AE fue eficaz para mejorar el rendimiento y el sistema inmunológico, mejorar la salud intestinal y disminuir la incidencia de PWD. En el estudio de Boudry y Perrier (2008) observaron que el timol y el cinamaldehído podrían ejercer un poder antioxidante en el intestino delgado de lechones destetados disminuyendo así la aparición de bacterias patógenas. Además, varios ensayos *in vitro* han demostrado la actividad

antibacteriana de una mezcla de aceites esenciales entre los que se encuentra el carvacrol contra bacterias patógenas como *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* y *Salmonella typhimurium* (Mulyaningsih et al., 2010; Bassolé y Juliani, 2012).

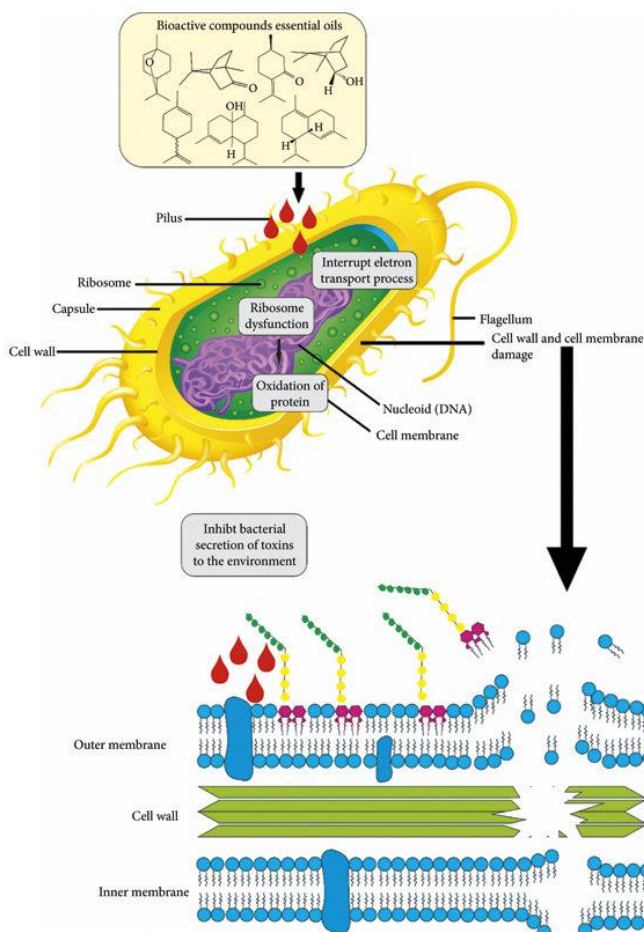


Figura 6. Mecanismo de acción de los aceites esenciales sobre las bacterias. (Ramos da Silva et al., 2021).

El estudio de Xu et al., (2017) los AO y AE tienen efectos interactivos sobre la salud intestinal cuando se suministran de forma individual, pero pueden aumentar el rendimiento del crecimiento de acuerdo con los efectos complementarios de los AO y los AE en los lechones recién destetados y podría utilizarse para reducir el uso de los antibióticos y el óxido de zinc. Según el estudio de Xu et al., (2020) la combinación de AO y AE combinado con antibióticos los primeros días de vida supone una mejora de la barrera intestinal y un aumento de la microflora beneficiosa.

Tabla 1. Alternativas al uso de antibióticos y óxido de zinc en lechones las primeras semanas posteriores al destete.

Alternativas al uso del óxido de zinc.	Efectos	Referencias
Reducción del nivel de proteína bruta.	<ul style="list-style-type: none"> ✓ Mejora salud intestinal. ✓ Reduce incidencia PWD. ✓ Reduce niveles de nitrógeno excretado. ✓ Reduce cantidad de proteína sin digerir en el intestino grueso. ✓ Disminuye la pérdida de energía por diseminación de proteína. ✓ Reduce el volumen de purines y tiene menor contenido de nutrientes en el mismos. 	<p>Wellock et al., 2006. Callesen et al., 2007. Wellock et al., 2007. Yue et al., 2008. Opapeju et al., 2009. Wu et al., 2015. Lynegaard et al., 2021.</p>
Fibra.	<ul style="list-style-type: none"> ✓ Mejora la motilidad intestinal. ✓ Mejora la salud intestinal al mejorar la calidad de las vellosidades. ✓ Su digestibilidad aumenta la producción de ácidos orgánicos de cadena corta. 	<p>Schedle et al., 2008. Jha and Berrocoso 2016. Rebello et al., 2016. Flis et al., 2017. Zhao et al. 2018. Wu et al. 2018. Jha et al., 2019. Sun et al., 2021.</p>
Ácidos orgánicos.	<ul style="list-style-type: none"> ✓ Elevada actividad antimicrobiana. ✓ Reduce riesgo de PWD. ✓ Mejora salud intestinal. ✓ Mejora rendimiento del lechón. ✓ Mejora digestibilidad de nutrientes. 	<p>Hellweg et al., 2006. Hanczakowska et al., 2011 Ma et al., 2012. Hanczakowska et al., 2013. Diao et al., 2014. Suiyanrayna y Ramana, 2015. Martínez-Vallespín et al., 2016. Nowak et al., 2017. Valle-González et al. 2018. Portocarero, 2022. Zheng et al., 2022.</p>

<p>Monoglicéridos de ácidos orgánicos.</p>	<ul style="list-style-type: none"> ✓ Su efecto no depende del pH. ✓ Elevada actividad antimicrobiana. ✓ Mejora la digestibilidad de nutrientes. ✓ Reduce riesgo de PWD. ✓ Reduce riesgo de aparición de bacterias patógenas. 	<p>Piva et al., 2002. Skrivanova et al., 2006. Han et al., 2011. Hyltdgaard et al., 2012. Wen et al., 2012. Ma et al., 2012. Hanczakwoska et al., 2013. Martínez-Vallespín et al., 2016. .</p>
<p>Ácidos húmicos (Leonardita).</p>	<ul style="list-style-type: none"> ✓ Inhibe crecimiento de microorganismos patógenos. ✓ Reduce contenido de micotoxinas en el pienso. ✓ Mejora el rendimiento. ✓ Protege le mucosa, facilitando la digestión y la absorción de nutrientes. 	<p>Islam et al., 2005. Ji et al., 2006. Wang et al., 2008. Aeschbacher et al., 2012. Trckova et al., 2017. Trckova et al., 2018. Kim et al., 2019. Dell'Anno et al., 2020.</p>
<p>Aceites esenciales.</p>	<ul style="list-style-type: none"> ✓ Potente actividad antimicrobiana y antiinflamatoria. ✓ Aumenta la digestibilidad. ✓ Mejora la morfología intestinal. ✓ Elevado poder antioxidante. 	<p>Boudry y Perrier 2008. Mulyaningsih et al., 2010. Bassolé y Juliani, 2012. Pathak et al., 2016. Valenzuela-Grijalva et al., 2017. Xu et al., 2017. Yang et al., 2019. Xu et al., 2020. López-Gálvez et al., 2021.</p>

El principal objetivo de esta tesis doctoral fue buscar estrategias nutricionales (combinaciones de aditivos y materias primas, reducción del nivel de proteína bruta, adición de ácidos húmicos y fibra) como alternativas para la sustitución del óxido de zinc y la reducción de antibióticos en dietas de lechones las primeras semanas posteriores al destete. Para la realización de la tesis doctoral se hicieron: una prueba *in vitro* con las principales bacterias patógenas causantes de enfermedades entéricas en lechones, en Foulum (Aarhus University, Dinamarca) y cuatro pruebas de campo en granjas de COPESE (Ávila).

A continuación, se exponen los objetivos de la presente tesis doctoral:

- Buscar alternativas a nivel nutricional al uso de óxido de zinc a dosis farmacológicas y antibióticos como promotores de crecimiento en lechones recién destetados.
- Evaluar el efecto de la adición de una combinación de conservantes (ácidos orgánicos (AO)), aromatizantes (aceites esenciales (AE)), y materias primas (mono, di y triglicéridos de ácidos orgánicos de cadena corta y media (MG)) sobre la salud y la productividad de lechones recién destetados.
- Analizar el efecto de la disminución de proteína bruta (PB) en la dieta de lechones las primeras semanas posteriores al destete.
- Estudiar el efecto de la adición de materias primas (ácidos húmicos, en particular la leonardita) en dietas de lechones las primeras semanas post destete.
- Examinar el efecto de la adición de fibra insoluble, en particular un concentrado basado en lignocelulosa, en la productividad y salud intestinal de los lechones las primeras semanas después del destete.
- Analizar el efecto *in vitro* de MG y AE, solos y en combinación sobre las principales bacterias causantes de enfermedades entéricas en lechones las primeras semanas post destete.

1.6. Bibliografía.

- Aeschbacher, M., Graf, C., Schwarzenbach, R., Sander, M., 2012. Antioxidant properties of humic substances. *Environ. Sci. Technol.* 46, 9. <https://doi.org/10.1021/es300039h>.
- Bailey, M., Haverson, K., Inman, C., Harris, C., Jones, P., Corfield, G., Miller, B., Stokes, C., 2005. The development of the mucosal immune system pre- and post-weaning: balancing regulatory and effector function. *Proc. Nutr. Soc.* 64, 451-457. <https://doi.org/10.1079/PNS2005452>.
- Bassolé, I.H.N., Juliani, H.R., 2012. Essential oils in combination and their antimicrobial properties. *Molecules* 17, 3989-4006. <https://doi.org/10.3390/molecules17043989>.
- Bednorz, C., Oelgeschläger, K., Kinnemann, B., Hartmann, S., Neumann, K., Pieper, R., Bethe, A., Semmler, T., Tedin, K., Schierack, P., Wieler, L.H., Guenther, S., 2013. The broader context of antibiotic resistance: Zinc feed supplementation of piglets increases the proportion of multiresistant *Escherichia coli* in vivo. *Int. J. Med. Microbiol.* 303, 396-403. <https://doi.org/10.1016/j.ijmm.2013.06.004>.
- Bergsson, G., Arnfinnsson, J., Steingrímsson, O., Thormar, H., 2001. In vitro killing of *Candida albicans* by fatty acids and monoglycerides. *Antimicrob. Agents Chemother.* 45, 3209-3212. <https://doi.org/10.1128/AAC.45.11.3209-3212.2001>.
- Biagi, G., Piva, A., Moschini, M., Vezzali, E., Roth, F.X., 2007. Performance, intestinal microflora, and wall morphology of weanling pigs fed sodium butyrate. *J. Anim. Sci.* 85, 1184-1191. <https://doi.org/10.2527/jas.2006-378>.
- Bikker, P., Jongbloed, A.W., Verheijen, R., Binnendijk, G., van Diepen, H., 2011. Zinc requirements of weaned piglets. Wageningen UR Livestock Research Publisher.
- Bonetti, A., Tugnoli, B., Piva, A., Grilli, E., 2021. Towards zero zinc oxide: feeding strategies to manage post-weaning diarrhea in piglets. *Animals* 11, 642. <https://doi.org/10.3390/ani11030642>.
- Boudry, G., Péron, V., Le Huërou-Luron, I., Lallès, J.P., Sève, B., 2004. Weaning induces both transient and long-lasting modifications of absorptive, secretory, and barrier properties of piglet intestine. *J. Nutr.* 134, 2256-2262. <https://doi.org/10.1093/jn/134.9.2256>.

- Boudry, G., Perrier, C., 2008. Thyme and cinnamon extracts induce anion secretion in piglet small intestine via cholinergic pathways. *J. Physiol. Pharmacol.* 59, 545-552.
- Burrough, E.R., De Mille, C., Gabler, N.K., 2019. Zinc overload in weaned pigs: Tissue accumulation, pathology, and growth impacts. *J. Vet. Diagnostic Investig.* 31, 537-545. <https://doi.org/10.1177/1040638719852>.
- Callesen, J.D., Halas, D., Thorup, F., Bach Knudsen, K.E., Kim, J.C., Mullan, B.P., Hampson, D.J., Wilson, R.H., Pluske, J.R., 2007. The effects of weaning age, diet composition, and categorisation of creep feed intake by piglets on diarrhoea and performance after weaning. *Livest. Sci.* 108, 120-123. <https://doi.org/10.1016/j.livsci.2007.01.014>.
- Cardinal, F., D'Allaire, S., Fairbrother, J.M., 2006. Feed composition in herds with or without postweaning *Escherichia coli* diarrhea in early weaned piglets. *J. Swine Health Prod.* 14, 10-17.
- Castillo, M., Martín-Orúe, S.M., Nofrarías, M., Manzanilla, E.G., Gasa, J., 2007. Changes in caecal microbiota and mucosal morphology of weaned pigs. *Vet. Microbiol.* 124, 239-247. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2007.04.026>.
- Champagne, E.T., Fisher, M.S., 1990. Binding differences of Zn (II) and Cu (II) ions with phytate. *J. Inorg. Chem.* 3, 217-223. [https://doi.org/10.1016/0162-0134\(90\)84014-G](https://doi.org/10.1016/0162-0134(90)84014-G).
- Churchward, C., Alany, R., Snyder, L., 2018. Alternative antimicrobials: the properties of fatty acids and monoglycerides. *Crit. Rev. Microbiol.* 44, 561-570. <https://doi.org/10.1080/1040841X.2018.1467875>.
- Coleman, J.E., 1992. Zinc proteins: enzymes, storage proteins, transcription factors and replication proteins. *Annu. Rev. Biochem.* 61, 897-946. <https://doi.org/10.1146/annurev.bi.61.070192.004341>.
- Collins, C.L., Henman, D.J., Dunshea, F.R., 2007. Reduced protein intake during the weaner period has variable effects on subsequent growth and carcass composition of pigs. *Aust. J. Exp. Agr.* 47, 1333-1340. <https://doi.org/10.1071/EA06059>.
- Cominelli, F., Arseneau, K.O., Blumberg, R.S., Stenson, W.T., Pizarro, T.T., 2009. The mucosal immune system and gastrointestinal inflammation. In: Yamada, T. (Ed), *Textbook of Gastroenterology*. 5th ed., Blackwell Publishing Ltd, Oxford, 133-168.

- Davin, R., Manzanilla, E.G., Klasing, K.C., Pérez, J.F., 2013. Effect of weaning and in-feed high doses of zinc oxide on zinc levels in different body compartments of piglets. *J. Anim. Physiol. Anim. Nutr. (Berl)* 97, 6-12. <https://doi.org/10.1111/jpn.12046>.
- De Lange, C.F.M., Pluske, J.R., Gong, J., Naychoti, C.M., 2010. Strategic use of feed ingredients and feed additives to stimulate gut health and development in young pigs. *Livest. Sci.* 134, 124-134. <https://doi.org/10.1016/j.livsci.2010.06.117>.
- De Melo, BA., Motta, F.L., Santana, MH., 2016. Humic acids: structural properties and multiple functionalities for novel technological developments. *Mater. Sci. Eng. C. Mater. Biol: Appl.* 62, 967-974. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2015.12.001>.
- Dębski, B., 2016. Supplementation of pig's diet with zinc and copper as alternative to conventional antimicrobials. *Pol. J. Vet. Sci.* 19, 917-924. <https://doi.org/10.1515/pjvs-2016-0113>.
- Dell'Anno, M., Hejna, M., Sotira, S., Caprarulo, V., Reggi, S., Pilu, R., Miragoli, F., Callegari, M.L., Panseri, S., Rossi, L., 2020. Evaluation of leonardite as a feed additive on lipid metabolism and growth of weaned piglets. *Anim. Feed Sci. Tech.*, 266, 114519. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2020.114519>.
- Diao, H., Zheng, P., Yu, B., He, J., Mao, X.B., Yu, J., Chen., D.W., 2014. Effects of dietary supplementation with benzoic acid on intestinal morphological structure and microflora in weaned piglets. *Livest. Sci.* 167, 249-256. <https://doi.org/10.1016/j.livsci.2014.05.029>.
- Dong, G.Z., Pluske, J.R., 2007. The low feed intake in newly-weaned pigs: problems and possible solutions. *J. Anim. Sci.* 20, 440-452. <https://doi.org/10.5713/ajas.2007.440>.
- Dubreuil, J.D., 2017. Enterotoxigenic Escherichia coli and probiotics in swine: what the bleep do we know? *Biosci. Microbiota Food Health* 36, 75-90. <https://doi.org/10.12938/bmfh.16-030>.
- Duque, G.A., Descoteaux, A., 2014. Macrophage cytokines: involvement in immunity and infectious diseases. *Front. Immunol.* 5, 1-12. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2014.00491>.

- Egerod, K.L., Engelstoft, M.S., Grunddal K.V., Nøhr, M.K., Secher, A., Sakata, I., Pedersen, J., Windeløv, J.A., Füchtbauer, E.M., Olsen, J., Sundel, F., Christensen, J.P., Wierup, N., Olsen, J.V., Holst, J.J., Zigman, J.M., Poulsen, S.S., Schwartz, T.W., 2012. A Major lineage of enteroendocrine cells coexpress CCK, secretin, GIP, GLP-1, PYY, and neurotensin but not somatostatin. *Endocrinology* 153, 5782-5795. <https://doi.org/10.1210/en.2012-1595>.
- EMEA, February 1999. Humic acids and their sodium salts, summary report. Committee for Veterinary Medicinal Products, the European Agency for the Evaluation of medicinal products (EMEA/MRL/554/99-final).
- European Commission, 2003. *Commission Regulation (EC) No 1334/2003 of 25 July 2003 Amending the Conditions for Authorisation of a Number of Additives in Feedingstuffs Belonging to the Group of Trace Elements*; Official Journal of the European Union: Brussels, Belgium, 2003.
- European Commission, 2016. *Commission Implementing Regulation (EU) 2016/1095 of 6 July 2016*; Official Journal of the European Union: Brussels, Belgium, 2016.
- European Commission, 2017. *Commission Implementing Decision of 26.6.2017 Concerning, in the Framework of Article 35 of Directive 2001/82/EC of the European Parliament and of the Council, the Marketing Authorisations for Veterinary Medicinal Products Containing “Zinc Oxide” to be Ad*; Official Journal of the European Union: Brussels, Belgium, 2017.
- European Food Safety Authority FEEDAP Panel, 2014. Scientific Opinion on the potential reduction of the currently authorised maximum zinc content in complete feed. *EFSA J.* 12, 3668. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2014.3668>.
- Fabian, J., Chiba, L.I., Kuhlers, D.L., Frobish, L.T., Nadarajah, K., Kerth, C.R., McElhenney, W.H., Lewis, A.J., 2002. Degree of amino acid restrictions during the grower phase and compensatory growth in pigs selected for lean growth efficiency. *J. Anim. Sci.* 80, 2610-2618. <https://doi.org/10.1093/ansci/80.10.2610>.
- Fabian, J., Chiba, L.I., Frobish, L.T., McElhenney, W.H., Kuhlers, D.L., Nadarajah, K., 2004. Compensatory growth and nitrogen balance in grower-finisher pigs. *J. Anim. Sci.* 82, 2579-2587. <https://doi.org/10.2527/2004.8292579x>.

- Flis, M., Sobotka, W., Antoszkiewicz, Z., 2017. Fiber substrates in the nutrition of weaned piglets- a review. *Ann. Anim. Sci.* 17, 627-643. <https://doi.org/10.1515/aoas-2016-0077>.
- Gräber, I., Hanse, J.F., Olesen, S.E., Petersen, J., Østergaard, H.S., Krogh, L., 2005. Accumulation of copper and zinc in Danish agricultural soils in intensive pig production areas. *Geogr. Tidsskr.* 105, 15-22. <https://doi.org/10.1080/00167223.2005.10649536>.
- Goodband, B., DeRouchey, J., Tokach, M., Dritz, S., Nelssen, J., 2006. Strategies for feeding weaned pigs. *Proc. London Swine Conf.*
- Hampson, D.J., 1986. Alterations in piglet small intestinal structure at weaning. *Rest. Vet. Sci.* 40, 32-40. [https://doi.org/10.1016/S0034-5288\(18\)30482-X](https://doi.org/10.1016/S0034-5288(18)30482-X).
- Han, Y.K., Hwang, I.L., Thacker, P.A., 2011. Use of a micro-encapsulated eucalyptus-medium chain fatty acid product as an alternative to zinc oxide and antibiotics for weaned pigs. *J. Swine Health Prod.* 19, 34-43.
- Hanczakowska, E., Szewcyk, A., Okon, K., 2011. Effects of dietary caprylic and capric acids on piglet performance and mucosal epithelium structure of the ileum. *J. Anim. Feed. Sci.* 20, 545-554.
- Hanczakowska, E., Szewcyk, A., Swiatkiewicz, M., Okon, K., 2013. Short- and medium-chain fatty acids as a feed supplement for weaning and nursery pigs. *Pol. J. Vet. Sci.* 16, 647-654. <https://doi.org/10.2478/pjvs-2013-0092>.
- Hansen, S.V., Simonsen, N.R., 2018. Short- and medium chain monoglycerides as an alternative to pharmaceutical zinc. Master thesis in animal science. *University of Copenhagen*.
- Hellweg, P., Tats, D., Männer, K., Vahjen, W., Zentek, J., 2006. Impact of potassium diformate on gut flora of weaned piglets. *Proc. Soc. Nutr. Physiol.* 15, 63.
- Heo, J.M., Kim, J.C., Hansen, C.F., Mullan, B.P., Hampson, D.K., Pluske, J.R., 2008. Effects of feeding low protein diets to piglets on plasma urea nitrogen, faecal ammonia nitrogen, the incidence of diarrhoea and performance after weaning. *Arch. Anim. Nutr.* 62, 343-358. <https://doi.org/10.1080/17450390802327811>.

- Heo, J.M., Kim, J.C., Hansen, C.F., Mullan, B.P., Hampson, D.J., Pluske, J.R., 2009. Feeding a diet with decreased protein content reduces indices of protein fermentation and the incidence of postweaning diarrhea in weaned pigs challenged with an enterotoxigenic strain of *Escherichia coli*. *J. Anim. Sci.* 87, 2833-2843. <https://doi.org/10.2527/jas.2008-1274>.
- Heo, J.M., Opapeju, F.O., Pluske, J.R., Kim, J.C., Hampson, D.J., Nyachoti, C.M., 2012. Gastrointestinal health and function in weaned pigs: a review of feeding strategies to control post-weaning diarrhoea without using in-feed antimicrobial compounds. *J. Anim. Physiol. Anim. Nutr. (Berl)* 97, 207-237. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0396.2012.01284.x>.
- Højberg, O., Canibe, N., Poulsen, H.D., Hedemann, M.S., Jensen, B.B., 2005. Influence of dietary zinc oxide and copper sulfate on the gastrointestinal ecosystem in newly weaned piglets. *Appl. Environ. Microbiol.* 71, 2267-2277. <https://doi.org/10.1128/AEM.71.5.2267-2277.2005>.
- Hopwood, D.E., Hampson, D.J., 2003. Interactions between the intestinal microflora, diet and diarrhoea, and their influences on piglet health in the immediate post-weaning period. *Weaning the Pig: Concepts and Consequences*. Wageningen Academic Publishers, Wageningen, Netherlands, 9, 199–218.
- Hotz, C., Brown, K.H., 2004. Assessment of the risk of zinc deficiency in populations and options for its control. *Food and Nutrition Bulletin* 25, S94-S200.
- Hu, C.H., Xiao, K., Luan, Z.S., Song, J., 2013. Early weaning increases intestinal permeability alters expression of cytokine and tight junction proteins and activates mitogen-activated protein kinases in pigs. *J. Anim. Sci.* 91, 1094-1101. <https://doi.org/10.2527/jas.2012-5796>.
- Islam, K.M.S., Schuhmacher, A., Gropp, J.M., 2005. Humic acid substances in animal agriculture. *Pak. J. Nutr.* 4, 126-134. <https://doi.org/10.3923/pjn.2005.126.134>.
- Jackman, J.A., Boyd, R.D., Elrod, C.C., 2020. Medium-chain fatty acids and monoglycerides as feed additives for pig production: Towards gut health improvement and feed pathogen mitigation. *J. Anim. Sci. Biotechnol.* 11, 44. <https://doi.org/10.1186/s40104-020-00446-1>.

- Jha, R., Fouhse, J.M., Tiwari, U.P., Li, L., Willing, B.P., 2019. Dietary fiber and intestinal health of monogastric animals. *Front. Vet. Sci.* 6, 48. <https://doi.org/10.3389/fvets.2019.00048>.
- Jha, R., Berrocoso, J.F.D., 2016. Dietary fiber and protein fermentation in the intestine of swine and their interactive effects on gut health and on the environment: A review. *Anim. Feed Sci. Technol.* 212, 18-26. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2015.12.002>.
- Ji, F., McGlone, J.J., Kim; S.W., 2006. Effects of dietary humic substances on pig growth performance, carcass characteristics, and ammonia emission. *J. Anim. Sci.* 84, 2482-2490. <https://doi.org/10.2527/jas.2005-206>.
- Juul-Madsen, H.R., Jensen, K.H., Nielsen, J., Damgaard, B.M., 2010. Ontogeny and characterization of blood leukocyte subsets and serum proteins in piglets before and after weaning. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 133, 95-108. <https://doi.org/10.1016/j.vetimm.2009.07.006>.
- Kampman-van de Hoek, E., Jansman, A.J., van de Borne, J.J., van der Peet-Schwering, C.M., van Beers-Schreurs, H., Gerrits, W.J., 2016. Dietary amino acid deficiency reduces the utilization of amino acids for growth in growing pigs after a period of poor health. *J. Nutr.* 146, 51-58. <https://doi.org/10.3945/jn.115.216044>.
- Kelly, D., Smith, J.A., McCracken, K.J., 1991. Digestive development in the early-weaned pig. I. Effect of continuous nutrient supply on the development of the digestive tract and on changes in digestive enzyme activity during the first week post-weaning. *Br. J. Nutr.* 65, 169-180. <https://doi.org/10.1079/BJN19910078>.
- Kil, D.Y., Kwon, W.B., Kim, B.G., 2011. Dietary acidifiers in weanling pig: a review. *Rev. Colomb. Cienc. Pecu* 24, 231-247.
- Kim, Y.Y., Kil, D.Y., Oh, H.K., Han, I.K., 2005. Acidifier as an alternative material to antibiotics in animal feed. *Asian-Aust. J. Anim. Sci.* 18, 1048-1060. <https://doi.org/10.5713/ajas.2005.1048>.
- Kim, K., Bae, I., Cho, J., Choi, Y., Ha, J., Choi, J., 2019. Effects of humic acid and blueberry leaf powder supplementation in feeds on the productivity, blood and meat quality of finishing pigs. *Food Sci., Anim Resour* 39, 276-285. <https://doi.org/10.5851/kosfa.2019.e22>.

- Kitahara, T., Koyama, N., Matsuda, J., Aoyama, Y., Hirikata, Y., Kamihita, S., Kohno, S., Nakashima, M., Sasaki, H., 2004. Antimicrobial activity of saturated fatty acids and fatty amines against methicillin resistant *Syaphylococcus aureus*. *Bio. Pharm. Bull.* 27, 1321-1326. <https://doi.org/10.1248/bpb.27.1321>.
- Lærke, H.N., Hedemann, M.S., 2012. The digestive system of the pig. *Nutritional Physiology of Pigs – With Emphasis on Danish Production Conditions*, SEGES Svineproduktion.
- Laine, T.M., Lyytikäinen, T., Yliaho, M., Anttila, M., 2008. Risk factors for post-weaning diarrhoea on piglet producing farms in Finland. *Acta Vet. Scand.* 50, 21. <https://doi.org/10.1186/1751-0147-50-21>.
- Lallés, J.P., Boudry, G., Favier, C., Le Floc'h, N., Luron, I., Montagne, L., Oswald, I.P., Pié, S., Piel, C., Sève, B., 2004. Gut function and dysfunction in young pigs: physiology. *Anim. Res.* 53, 301-316. <https://doi.org/10.1051/animres:2004018>.
- Lallès, J.P., Bosi, P., Smidt, H., Stokes, C.R., 2007. Weaning – a challenge to gut physiologists. *Livest. Sci.* 108, 82-93. <https://doi.org/10.1016/j.livsci.2007.01.091>.
- Le Bellego., L., Noblet, J., 2002. Performance and utilization of dietary energy and amino acids in piglets fed low protein diets. *Livest Prod. Sci.* 76, 45-58. [https://doi.org/10.1016/S0301-6226\(02\)00008-8](https://doi.org/10.1016/S0301-6226(02)00008-8).
- Le Dividich, J., Sève, B., 2000. Energy requirement of the young piglet. Chapter 2 In: Wiseman, J., (Ed.), *The Weaner Pig*. CAB International, Oxford, in press.
- Li, B.T., Van Kessel, A.G., Caine, W.R., Huang, S.X., Kirkwood, R.N., 2001. Small intestinal morphology and bacterial populations in ileal digesta and feces of newly weaned pigs receiving a high dietary level of zinc oxide. *Can. J. Anim. Sci.* 81, 511-516. <https://doi.org/10.4141/A01-043>.
- Liu, Y., Espinosa, D.C., Abelilla, J.J., Casas, G.A., Lagos, L.V., Lee, S.A., Kwon, W.B., Mathai, J.K., Navarro, M.D.L., Jaworski, N.W., Stein, H.H., 2018. Non-antibiotic feed additives in diet for pigs: A review. *Anim. Nutr.* 4, 113-125. <https://doi.org/10.1016/j.aninu.2018.01.007>.
- Llyod, D.A.J., Gabe, S.M., 2008. Intestinal morphology, intestinal regeneration and the promise of tissue engineering. *Intestinal Failure: Diagnosis, Management and Transplantation*. Wiley-Blackwell, Maiden, MA, USA, 2, 13-19.

- López-Gálvez, G., López-Alonso, M., Pechova, A., Mayo, B., Dierick, N., Gropp, J., 2021. Alternatives to antibiotics and trace elements (copper and zinc) to improve gut health and zootechnical parameters in piglets: A review. *Anim. Feed Sci. Technol.* 271, 114727. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2020.114727>.
- Lynegaard, J.C., Kjeldsen, N.J., Bache, J.K., Weber, N.R., Hanse, C.F., Nielsen, J.P., Amdi, C., 2021. Low protein diets without medicinal zinc oxide for weaned pigs reduced diarrhea treatments and average daily gain. *Animal* 15, 100075. <https://doi.org/10.1016/j.animal.2020.100075>.
- Ma, X., Fan, P.X., Li, L.S., Qiao, S.Y., Zhang, G.L., Li, D.F., 2012. Butyrate promotes the recovering of intestinal wound healing through its positive effect on the tight junctions. *J. Anim. Sci.* 90, 266-268. <https://doi.org/10.2527/jas.50965>.
- Ma, J., Piao, X., Shang, Q., Long, S., Liu, S., Mahfuz, S., 2021. Mixed organic acids as an alternative to antibiotics improve serum biochemical parameters and intestinal health of weaned piglets. *Anim. Nutr.* 7, 737-749. <https://doi.org/10.1016/j.aninu.2020.11.018>.
- Mani-López, E., García, H.S., López-Malo, A., 2012. Organic acids as antimicrobials to control *Salmonella* in meat and poultry products. *Int. Food Res. J.* 45, 713-721. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2011.04.043>.
- Mantis, N.J., Rol, N., Corthésy, B., 2011. Secretory IgA's complex roles in immunity and mucosal homeostasis in the gut. *Mucosal Immunol.* 4, 603-611. <https://doi.org/10.1038/mi.2011.41>.
- Martínez-Vallespín, B., Vahjen, W., Zentek, J., 2016. Effects of medium-chain fatty acids on the structure and immune response of IPEC-J2 cells. *Cytotechnology*, 68, 1925-1936. <https://doi.org/10.1007/s10616-016-0003-1>.
- Mateos, G.G., Martín, F., Latorre, M.A.Vicente, B., Lázaro, R., 2006. Inclusion of oat hulls in diets for young pigs based on cooked maize or cooked rice. *Anim. Sci.* 82, 57-63. <https://doi.org/10.1079/ASC20053>.
- Mateos, G.G., Kadardar, H., Dardabou, L., Fernández, A., Luna, N., Aguirre, L., 2021. Estrategias nutricionales para la prevención y control de procesos digestivos en lechones postdestete en ausencia de óxido de zinc en el pienso (I). *Suis*, 178.

- McCracken, B.A., Spurlock, M.E., Roos, M.A., Zuckermann, F.A., Gaskins, H.R., 1999. Weaning anorexia may contribute to local inflammation in the piglet small intestine. *J. Nutr.* 129, 613-619. <https://doi.org/10.1093/jn/129.3.613>.
- Meyer, T.A., Lindemann, M.D., Cromwell, G.L., Monegue, H.J., Inocencio, H.J., 2002. Effects of pharmacological levels of zinc as zinc oxide on fecal zinc and mineral excretion in weanling pigs. *Prof. Anim. Sci.* 18, 162-168. [https://doi.org/10.15232/S1080-7446\(15\)31506-0](https://doi.org/10.15232/S1080-7446(15)31506-0).
- Meyer-Hoffert, U., Hornef, M.W., Henriques-Normark, B., Axelsson, L.G., Midtvedt, T., Pütsep, K., Andersson, M., 2008. Secreted enteric antimicrobial activity localises to the mucus surface layer. *Gut* 57, 764-771. <http://dx.doi.org/10.1136/gut.2007.141481>.
- Miller, B.G., Jamen, P.S., Smith, M.W., Bourne, F.J., 1986. Effect of weaning on the capacity of pig intestine villi to digest and absorb nutrients. *J. Agric. Sci. Camb.* 107, 579-589. <https://doi.org/10.1017/S0021859600069756>.
- Monteiro, S.C., Lofts, S., Boxall, A.B.A., 2010. Pre-assessment of environmental impact of zinc and copper used in animal nutrition. *EFSA Support. Publ.* 7, 74E. <https://doi.org/10.2903/sp.efsa.2010.EN-74>.
- Molist, F., Hermes, R.G., Gómez de Segura, A., Martín-Orúe, S., Gasa, J., García, E., Pérez, J.F., 2011. Effect and interaction between wheat bran and zinc oxide on productive performance and intestinal health in post-weaning piglets. *British Journal of Nutrition* 105, 1592-1600. <https://doi.org/10.1017/S0007114510004575>.
- Mulyaningsih, S., Sporer, F., Zimmermann, S., Reichling, J., Wink, M., 2010. Synergistic properties of the terpenoids aromadendrene and 1,8-cineole from the essential oil of *Eucalyptus globulus* against antibiotic-susceptible and antibiotic-resistant pathogens. *Phytomedicine*, 17, 1061-1066. <https://doi.org/10.1016/j.phymed.2010.06.018>.
- Nhung, N., Cuong, N., Thwaites, G., Carrique-Mas, J., 2016. Antimicrobial usage and antimicrobial resistance in animal production in Southeast Asia: a review. *Antibiotics* 5, 37. <https://doi.org/10.3390/antibiotics5040037>.

- Nowak, P., Kasprowick-Potocka, M., Zaworska, A., Nowak, W., Stefańska, B., Sip, A., Grajek, W., Juzwa, W., Taciak, M., Barszcz, M., Tuśnio, A., Grajek, K., Foksowicz-Flacyk, J., Frankiewica, A., 2017. The effect of eubiotic feed additives on the performance of growing pigs and the activity of intestinal microflora. *Arch. Anim. Nutri.* 71, 455-469. <https://doi.org/10.1080/1745039X.2017.1390181>.
- Nowak, P., Zaworska-Zakrzewka, A., Frankiewicz, A., Kasprowick-Potocka, M., 2021. The effects and mechanisms of acids on the health of piglets and weaners. *Ann. Anim. Sci.* 21, 433-455. <https://doi.org/10.2478/aoas-2020-0088>.
- Nyachoti, C.M., Omogbenigun, F.O., Rademacher, M., Blank, G., 2006. Performance responses and indicators of gastrointestinal health in early-weaned pigs fed low-protein amino acid-supplemented diets. *J. Anim. Sci.* 84, 125-134. <https://doi.org/10.2527/2006.841125x>.
- O'Doherty, J.V., Bouwhuis, M.A., Sweeney, T., 2017. Novel marine polysaccharides and maternal nutrition to stimulate gut health and performance in post-weaned pigs. *Anim. Prod. Sci.* 57, 2376-2385. <https://doi.org/10.1071/AN17272>.
- Opapeju, F.O., Rademacher, M., Blank, G., Nyachoti, C.M., 2008. Effect of low-protein amino acid-supplemented diets on the growth performance, gut morphology, organ weights and digesta characteristics of weaned pigs. *Animal* 2, 1457-1464. <https://doi.org/10.1017/S175173110800270X>.
- Opapeju, F.O., Krause, D.O., Payne, R.L., Rademacher, M., Nyachoti, C.M., 2009. Effect of dietary protein level on growth performance, indicators of enteric health, and gastrointestinal microbial ecology of weaned pigs induced with postweaning colibacillosis. *J. Anim. Sci.* 87, 2635-2643. <https://doi.org/10.2527/jas.2008-1310>.
- Ou, D., Li, D., Cao, Y., Li, X., Yin, J., Qiao, A., Wu, G., 2007. Dietary supplementation with zinc oxide decreases expression of the stem cell factor in the small intestine of weanling pigs. *J. Nutr. Biochem.* 18, 820-826. <https://doi.org/10.1016/j.jnutbio.2006.12.022>.
- Pascoal, L.A.F., Thomaz, M.C., Watanabe, P.H., dos Santos Ruiz, U., Ezequiel J.M.B., Amorim, A.B., Everton, d., Masson, G.C.I., 2012. Fiber sources in diets for newly weaned piglets. *R. Bras. Zootec.* 41, 3. <https://doi.org/10.1590/S1516-35982012000300024>.

- Pelaseyed, T., Bergström, J.H., Gustafsson, J.K., Ermund, A., Birchenough, G.M.H., Schütte, A., van der Post, S., Svensson, F., Rodríguez.Piñeiro, A.M., Nyström, E.E.L., Wising, C., Johansson, M.E.V., Hansson, G.C., 2014 The mucus and mucins of the goblet cells and enterocytes provide the first defense line of the gastrointestinal tract and interact with the immune system. *Immunol. Rev.* 260, 8-20. <https://doi.org/10.1111/imr.12182>.
- Phillips, F.C., Rubach, J.K., Poss, M.J., Anam, S., Goyal, S.M., Dee, S.A., 2021. Monoglyceride reduces viability of porcine epidemic diarrhoea virus in feed and prevents disease transmission to post-weaned piglets. *Transbound. Emerg. Dis.* 69:1, 121-127. <https://doi.org/10.1111/tbed.14353>.
- Piè, S., Lallès, J.P., Blazy, F., Laffitte, J., Sève, B., Oswald, I.P., 2004. Weaning is associated with upregulation of expression of inflammatory cytokines in the intestine of piglets. *J. Nutr.* 134, 641-647. <https://doi.org/10.1093/jn/134.3.641>.
- Piva, A., Morlacchini, M., Casedei, G., Gatta, P.P., Biagi, G., Prandini, A., 2002. Sodium butyrate improves growth performance of weaned piglets during the first period after weaning. *Ital. J. Anim. Sci.* 1, 35-41. <https://doi.org/10.4081/ijas.2002.35>.
- Portocarero, N., 2022. Comparison of caproic acid and monolaurin with zinc oxide and benzoic acid; effect on growth performance of weaned pigs. *J. Appl. Anim. Nutr.* 10, 39-44. <https://doi.org/10.3920/JAAN2021.0013>.
- Poulsen, H.D., Larsen, T., 1995. Zinc excretion and retention in growing pigs fed increasing levels of zinc oxide. *Livest. Prod. Sci.* 43, 235-242. [https://doi.org/10.1016/0301-6226\(95\)00039-N](https://doi.org/10.1016/0301-6226(95)00039-N).
- Poulsen, H.D., 1995. Zinc oxide for weanling piglets. *Acta Agric. Scand. Sect. A* 45, 3. <https://doi.org/10.1080/09064709509415847>.
- Powell, S., Bidner, T.D., Payne, R.L., Southern, L., 2011. Growth performance of 20- to 50- kilogram pigs fed low-crude-protein diets supplemented with histidine, cystine, glycine, glutamic acid, or arginine. *J. Anim. Sci.* 89, 3643-3650. <https://doi.org/10.2527/jas.2010-3757>.
- Pluske, J.R., Williams, I.H., Aherne, F.X., 1996. Maintenance of villous height and crypt depth in piglets by providing continuous nutrition after weaning. *Anim. Sci.* 63, 131-144. <https://doi.org/10.1017/S1357729800014417>.

- Pluske, J.R., Hampson, D.J., Williamsn, I.H., 1997. Factors influencing the structure and function of the small intestine in the weaned pig: a review. *Livest. Prod. Sci.* 51, 215-236. [https://doi.org/10.1016/S0301-6226\(97\)00057-2](https://doi.org/10.1016/S0301-6226(97)00057-2).
- Pluske, J. R., Pethick, D. W., Hopwood, D. E., Hampson, D. J., 2002. Nutritional influences on some major enteric bacterial diseases of pig. *Nutr. Res. Rev.* 15, 333-371. <https://doi.org/10.1079/nrr200242>.
- Qin, C., Huang, P., Qiu, K., Sun, W., Xu, L., Zhang, X., Yin, J., 2015. Influences of dietary protein sources and crude protein levels on intracellular free amino acid profile in the *longissimus dorsi* muscle of finishing gilts. *J. Anim. Sci. Biotechnol.* 6, 52. <https://doi.org/10.1186/s40104-015-0052-x>.
- Ramos da Silva, L.R., Oliveira Ferreira, O., Nevez Cruz, J., Pereira Franco, C.J., Oliveira dos Anjos, T., Moraes Cascaes, M., Almeida da Costa, W., de Aguiar Andrade, E.H., Santana de Oliveira, M., 2021. Lamiaceae Essential Oils, Phytochemical Profile, Antioxidant, and Biological Activities. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine* 1, 18. <https://doi.org/10.1155/2021/6748052>.
- Rebello, C.J., O'Neil, C.E., Greenway, F.L., 2016. Dietary fiber and satiety: the effects of oats on satiety. *Nutrition Reviews* 74, 131-147. <https://doi.org/10.1093/nutrit/nuv063>.
- Regulation (EC) N° 1831/2003, of the European Parliament and of the Council of 22 September 2003 on additives for use in animal nutrition. OJ L 268, 2003, 29–43, 18.10.
- Ren, C., Zhou, Q., Guan, W., Lin, X., Wang, Y., Song, H., Zhang, Y., 2019. Immune response of piglets receiving mixture of formic and propionic acid alone or with either capric acid or *Bacillus licheniformis* after *Escherichia coli* challenge. *Biomed. Res. Int.* 2019, Art. ID 6416187. <https://doi.org/10.1155/2019/6416187>.
- Rubin, D.C., Shaker, A., 2015. Small intestine: Anatomy and Structural Anomalies. n: Yamada Textbook of Gastroenterology. Blackwell Publishing Ltd., Oxford. Chapter 5, 1085-1107. <https://doi.org/10.1002/9781118512074.ch5>.

- Shen, J., Chen, Y., Wang, Z., Zhou, A., He, M., Mao, L., Zou, H., Peng, Q., Xue, B., Wang, L., Zhang, X., Wu, S., Lv, Y., 2014. Coated zinc oxide improves intestinal immunity function and regulates microbiota composition in weaned piglets. *Br. J. Nutr.* 111, 2123-2134. <https://doi.org/10.1017/S0007114514000300>.
- Silva, K.E., Mansilla, W.D., Shoveller, A.K., Htoo, J.K., Cant, J.P., De Lange, C.F.M., Huber, L.A., 2020. The effect of supplementing glycine and serine to a low crude protein diet on growth and skin collagen abundance of nursery pigs. *J. Anim. Sci.* 98, 2. <https://doi.org/10.1093/jas/skaa023>.
- Sjaastad, ØV., Sand, O., Hove, K., 2010. *Physiology of Domestic Animals*. 2nd edition. Scandinavian Veterinary Press, Oslo.
- Skřivanová, E., Savka, O.G., Marounek, M., 2004. *In vitro* effect of C₂-C₁₈ fatty acids on *Salmonellas*. *Folia Microbiol.* 49, 199-202. <https://doi.org/10.1007/BF02931402>.
- Skřivanová, E., Marounek, M., Benda, V., Brezina, P., 2006. Susceptibility of *Escherichia coli*, *Salmonella sp.* and *Clostridium perfringens* to organic acids and monolaurin. *Veterinarni Medicina* 51, 81-88.
- Skřivanová, E., Molatová, Z., Skřivanová, V., Marounek, M., 2009. Inhibitory activity of rabbit milk and medium-chain fatty acids against enteropathogenic *Escherichia coli* O128. *Vet. Microbiol.* 135, 358-362. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2008.09.083>.
- Slifierz, M.J., Friendship, R., Weese, J.S., 2015. Zinc oxide therapy increases prevalence and persistence of methicillin-resistant staphylococcus aureus in pigs: A randomized controlled trial. *Zoonoses Public. Health* 62, 301-308. <https://doi.org/10.1111/zph.12150>.
- Sørensen, K., Five considerations for weaning without ZnO. 2023. *Pig Progress* 39, 2.
- Spreeuwenberg, M.A.M., Verdonk, J.M., Gaskins, H.R., Verstegen, M.W., 2001. Small intestine epithelial barrier function is compromised in pigs with low feed intake at weaning. *J. Nutr.* 131, 1520-1527. <https://doi.org/10.1093/jn/131.5.1520>.

- Stokes, C.R., Bailey, M., Haverson, K., Harris, C., Jones, P., Inman, C., Piè, S., Oswald, I.P., Williams, B.A., Akkermans, D.L., Sowa, E., Rothkötter, H.J., Miller, B.G., 2004. Postnatal development of intestinal immune system in piglets: implications for the process of weaning. *Anim. Res.* 53. 325-334. <https://doi.org/10.1051/animres:2004020>.
- Suiryarayna M., Ramana, J. V., 2015. A review of the effects of dietary organic acids fed to swine. *J. Anim. Sci. Biotechnol.* 6, 45. <https://doi.org/10.1186/s40104-015-0042-z>.
- Sun, Y., Teng, T., Bai, G., Qiu, S., Shi, B., Ju, D., Zhao, X., 2020. Protein restricted diet balanced for lysine, methionine, threonine, and tryptophan for nursery pigs elicits subsequent compensatory growth and has long term effects on protein metabolism and organ development. *Anim. Feed. Sci. Technol.* 270, 114712. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2020.114712>.
- Sun., X., Cui, Y., Su, Y., Gao, Z., Diao, X., Li, D., Zhu, X., Li, D., Li, Z., Wang, C., Shi, Y., 2021. Dietary fiber ameliorates lipopolysaccharide-induced intestinal barrier function damage in piglets by modulation of intestinal microbiome. *ASM Journals, MSystems* 6, 2. <https://doi.org/10.1128/mSystems.01374-20>.
- Thomas, L.L., Woodworth, J.C., Tokach, M.D., Dritz, S.S., DeRoeuchey, J.M., Goodband, R.D., Williams, H.E., Hartman, A.R., Mellick, D.J., McKilligan, D.M., Jones, A.M., 2020. Evaluation of different blends of medium-chain fatty acids, lactic acid, and monolaurin on nursery pig growth performance. *Transl. Anim. Sci.* 4, 548-557. <https://doi.org/10.1093/tas/txaa024>.
- Torrallardona, D., Badiola, I., Broz, J., 2007. Effects of benzoic acid on performance and ecology of gastrointestinal microbiota in weanling piglets. *Livest. Sci.* 108, 210-213. <https://doi.org/10.1016/j.livsci.2007.01.062>.
- Trckova, M, Lorencova, A., Hazova, K., Sramkova Zajacova, Z., 2015. Prophylaxis of post-weaning diarrhoea in piglets by zinc oxide and sodium humate. *Vet. Med.* 60, 351-360. <https://doi.org/10.17221/8182-VETMED>.
- Trckova, M., Lorencova, A., Babak, V., Neca, J., Ciganek, M., 2017. Effects of sodium humate and zinc oxide used in prophylaxis of post-weaning diarrhoea on the health, oxidative stress status and fatty acid profile in weaned piglets. *Vet. Med.* 62, 16-28. <https://doi.org/10.17221/70/2016-VETMED>.

- Trckova, M., Lorencova, A., Babak, V., Neca, J., Ciganek, M., 2018. The effect of leonardite and lignite on the health of weaned piglets. *Res. Vet. Sci.* 119, 134-142. <https://doi.org/10.1016/j.rvsc.2018.06.004>.
- Tsai, P.Y., Zhang, B., He, W.Q., Zha, J.M., Odenwald, M.A., Sing, G., Tamura, A., Shen, L., Sailer, A., Yeruva, S., Kuo, W.T., Fu, Y.X., Tsukita, S., Turner, J.R., 2017. IL-22 Upregulates epithelial claudin-2 to drive diarrhea and enteric pathogen clearance. *Elsevier Inc.* 21, 671-684. <https://doi.org/10.1016/j.chom.2017.05.009>.
- Van Immerseel, F., Russell, J.B., Flythe, M.D., Gantois, I., Timbermont, L., Pasmans, F., Haesebrouck, F., Ducatelle, R., 2006. The use of organic acids to combat *Salmonella* in poultry: a mechanistic explanation of the efficacy. *Avian Pathology* 35, 182-188. <https://doi.org/10.1080/03079450600711045>.
- Valenzuela-Grijalva, N. V., Pinelli-Saavedra, A., Muhlia-Almazan, A., Domínguez-Díaz, D., González-Ríos, H., 2017. Dietary inclusion effects of phytochemicals as growth promoters in animal production. *J. Anim. Sci. Technol.* 59, 8. <https://doi.org/10.1186/s40781-017-0133-9>.
- Valle-González, E.R., Jackman, J.A., Yoon, B.K., Park, S., Sut, T.N., Cho, N.J., 2018. Characterizing how acidic pH conditions affects the membrane-disruptive activities of lauric acid and glycerol monolaurate. *Langmuir* 34, 13745-13753. <https://doi.org/10.1021/acs.langmuir.8b02536>.
- Wang, Q., Chen, Y., Yoo, J., Kim, H., Cho, J., Kim, I., 2008. Effects of supplemental humic substances on growth performance, blood characteristics and meat quality in finishing pigs. *Livest. Sci.* 117, 270-274. <https://doi.org/10.1016/j.livsci.2007.12.024>.
- Wang, Y., Zhou, J., Wang, G., Zeng, X., Qiao, S., 2018. Advances in low-protein diets for swine. *J. Anim. Sci. Biotechnol.* 9, 60. <https://doi.org/10.1186/s40104-018-0276-7>.
- Wellock, I.J., Fortomaris, P.D., Houdijk, J.G.M., Kyriazakis, I., 2006. The effect of dietary protein supply on the performance and risk of post-weaning enteric disorders in newly weaned pigs. *Anim. Sci.* 82, 327-335. <https://doi.org/10.1079/ASC200643>.

- Wellock, I.J., Fortomaris, P.D., Houdijk, J.G.M., Kyriazakis, I., 2007. Effect of weaning age, protein nutrition and enterotoxigenic *Echerichia coli* challenge on the health of newly weaned piglets. *Livest. Sci.* 108, 102-105. <https://doi.org/10.1016/j.livsci.2007.01.004>.
- Wen, Z., Lu, J., Zou, X.T., 2012. Effect of sodium butyrate on the intestinal morphology and DNA-binding activity of the intestinal nuclear factor- κ B in weanling pigs. *J. Anim. Vet. Adv.* 11, 814-821.
- Williams, B.A., Verstegen, M.W.A., Tamminga, S., 2007. Fermentation in the large intestine of single-stomached animals and its relationship to animal health. *Nutr. Res. Rev.* 14, 207-228. <https://doi.org/10.1079/NRR200127>.
- Wu, Y., Jiang, Z., Zheng, C., Wang, L., Zhu, C., Yang, X., Wen, X., Ma, X., 2015. Effects of protein sources and levels in antibiotic-free diets on diarrhea, intestinal morphology, and expression of tight junctions in weaned piglets. *Anim. Nutr.* 1, 170-176. <https://doi.org/10.1016/j.aninu.2015.08.013>.
- Wu, X., Chen, D., Yu, B., Luo, Y., Zheng, P., Mao, X., Yu, J., He, J., 2018. Effect of different dietary non-starch fiber fractions on growth performance, nutrient digestibility, and intestinal development in weaned pigs. *Nutrition* 51-52, 20-28. <https://doi.org/10.1016/j.nut.2018.01.011>.
- Xu, Y.T., Liu, L., Long, S.F., Pan, L., Piao, X.S., 2017. Effect of organic acids and essential oils on performance, intestinal health and digestive enzyme activities of weaned pigs. *Anim. Feed Sci. Technol.* 235, 110-119.
- Xu, Y., Lahaye, L., He, Z., Zhang, J., Yang, C., Piao, X., 2020. Micro-encapsulated essential oils and organic acids combination improves intestinal barrier function, inflammatory responses and microbiota of weaned piglets challenged with enterotoxigenic *Echerichia coli* F4 (K88⁺). *Anim. Nutr.* 6, 269-277. <https://doi.org/10.1016/j.aninu.2020.04.004>.
- Yang, C., Zhang, L., Cao, G., Feng, J., Yue, M., Xu, Y., Dai, B., Han, Q., Guo, X., 2019. Effects of dietary supplementation with essential oils and organic acids on the growth performance, immune system, faecal volatile fatty acids, and microflora community in weaned piglets. *J. Anim. Sci.* 97, 133-143. <https://doi.org/10.1093/jas/sky426>.

- Yin, J., Li, X., Li, D., Youe, T., Fang, Q., Ni, J., Zhou, X., Wu., 2009 Dietary supplementation with zinc oxide stimulates ghrelin secretion from the stomach of young pigs. *J. Nutr. Biochem.* 20, 783-790. <https://doi.org/10.1016/j.jnutbio.2008.07.007>.
- Yoon, B. K., Jackman, J. A., Valle-González, E. R., & Cho, N. J., 2018. Antibacterial free fatty acids and monoglycerides: Biological activities, experimental testing, and therapeutic applications. *Int. J. Mol. Sci.* 19, 1114. <https://doi.org/10.3390/ijms19041114>.
- Yoon, B.K., Jackman, J.A., Kim, M.C., Sut, T.N., Cho, N.J., 2017. Correlating Membrane Morphological Responses with Micellar Aggregation Behavior of Capric Acid and Monocaprin. *Langmuir* 33, 2750-2759. <https://doi.org/10.1021/acs.langmuir.6b03944>.
- Yu, D., Zhu, W., Hang, S., 2019. Effects of low-protein diet on the intestinal morphology, digestive enzyme activity, blood urea nitrogen, and gut microbiota and metabolites in weaned piglets. *Arch. Anim. Nutr.* 73:4, 287-305. <https://doi.org/10.1080/1745039X.2019.1614849>.
- Yue, L.Y., Qiao, S.Y., 2008. Effects of low-protein diets supplemented with crystalline amino acids on performance and intestinal development in piglets over the first 2 weeks after weaning. *Livest. Sci.* 115, 144-152. <https://doi.org/10.1016/j.livsci.2007.06.018>.
- Zhang, Y., Xu, R., 2003. Anatomy and histology of the gastrointestinal tract. *The neonatal pig: Gastrointestinal physiology and nutrition*. ISBN: 978-1897676172.
- Zhang, B., Guo, Y., 2009. Supplemental zinc reduced intestinal permeability by enhancing occludin and zonula occludens protein-1 (ZO-1) expression in weaning piglets. *Br. J. Nutr.* 102, 687–693. <https://doi.org/10.1017/S0007114509289033>.
- Zhao, J., Liu, P., Wu, Y., Guo, P., Liu, L., Ma, N., Levesque, C., Chen, Y., Zhao, J., Zhang, J., Ma, X., 2018. Dietary fiber increases butyrate-producing bacteria and improves the growth performance of weaned piglets. *J. Agric. Food Chem.* 66, 7995-8004. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.8b02545>.

- Zheng, X., Yang, Y., Wang, J., Wang, Z., Li, J., Yin, Y., Yang, H., 2022. Dietary butyrate, lauric acid and stearic acid improve gut morphology and epithelial cell turnover in weaned piglets. *Anim. Nutr.* 11, 276-282. <https://doi.org/10.1016/j.aninu.2022.07.012>.

CAPITULO 3. “Efecto del nivel de proteína y de la sustitución de óxido de zinc por una mezcla compuesta por ácidos orgánicos, mono, di y triglicéridos de ácidos orgánicos de cadena corta y media y aceites esenciales, sobre la productividad y la salud de lechones recién destetados”.

3.1. Introducción.

Tal y como se ha explicado en el capítulo 1 de la presente tesis doctoral, el destete es un proceso crítico para los lechones debido en primer lugar a la inmadurez de su sistema inmunitario y seguido de causas externas como pueden ser separación de la camada, cambio en la forma de alimentación, higiene, manejo etc. Todo esto aumenta el riesgo de aparición de PWD los primeros días posteriores al destete. El principal objetivo para disminuir este riesgo es que el lechón empiece a comer pienso lo antes posible, de esta forma no se produciría atrofia en las vellosidades intestinales, el sistema inmune se desarrollaría con normalidad y al reducir el estrés en el animal, disminuiríamos la proliferación de bacterias patógenas.

Como explican Mateos, et al. (2021) para eliminar y reducir el uso del óxido de zinc manteniendo los niveles de productividad, es necesario introducir cambios en todas las áreas de producción porcina incluyendo el diseño de las naves, el manejo y movimiento de animales dentro de la explotación, la higiene de las instalaciones, la reducción de las posibles causas de estrés de los lechones, los programas preventivos incluyendo programas de vacunación y los criterios y diseño de la alimentación (Pluske et al., 2002; Goodband et al., 2006; Pluske et al., 2018).

A fin de mejorar la productividad del lechón y aumentar su capacidad de defensa, es clave asegurar consumos altos de pienso horas después del destete (Le Dividich y Sève, 2000). Por tanto, en ausencia de óxido de zinc y de antibióticos el principal objetivo es reducir el exceso de nutrientes en el intestino grueso, centrándose en aquellos elementos ricos en nitrógeno.

Ya se ha comentado en el capítulo 1, hoy en día, el uso de óxido de zinc a dosis farmacológicas y el uso de antibióticos como promotores de crecimiento está prohibido en Europa, por tanto, es necesario la búsqueda de alternativas.

Según la bibliografía, una de las alternativas potenciales es la bajada de proteína bruta (PB) en las dietas de los lechones los primeros días posteriores al destete (De Lange et al., 2010; O'Doherty et al., 2017). Según estos autores, la PB no digerida que llega al intestino grueso puede ser fermentada por bacterias proteolíticas, lo que da como resultado la proliferación de bacterias patógenas y la producción de metabolitos tóxicos tales como amoníaco, aminos o fenoles, lo que puede favorecer la aparición de PWD (Pluske et al., 2002). De acuerdo con Wang et al. (2018), varios estudios han demostrado que las dietas

bajas en proteína reducen la incidencia de PWD y mantienen la salud intestinal de los lechones los primeros días posteriores al destete (Wellock et al., 2007; Yue et al., 2008; Heo et al., 2008, 2010; Wu et al., 2015).

Por otro lado, hay que destacar como alternativa el uso de aditivos. Entre ellos están los ácidos orgánicos (AO), aditivos que forman parte del grupo de los conservantes (Registro de aditivos para piensos de la Unión Europea de acuerdo con el reglamento 1831/2003). Tienen gran importancia los de cadena corta como el fórmico, acético, propiónico o butírico. Estos ácidos son producidos en el intestino grueso de los mamíferos por la fermentación de carbohidratos no digeridos (Morel et al., 2019). El ácido butírico es la principal fuente de energía para los colonocitos, donde se utiliza hasta en un 90%, tiene un efecto positivo en el desarrollo del epitelio intestinal. El ácido acético es transportado desde el colon hasta el hígado donde se utiliza hasta en un 70%, como fuente de energía para los hepatocitos. El ácido propiónico es el principal precursor de la glucogénesis en el hígado y es necesario para la formación de energía en el organismo (Hijova and Chmelarova, 2007; Den Besten et al., 2013, Canfora et al., 2015). Su acción antibacteriana consiste en que la forma no disociada del ácido penetra a través de la membrana bacteriana y llegue hasta el citoplasma de esta (Nowak et al., 2021). Los ácidos orgánicos de cadena media se definen como ácidos grasos saturados con cadenas de hidrocarburos de 6 a 12 moléculas de carbono y se presentan como ácidos libres o formando mono, di y triglicéridos (MG) (Jackman et al., 2020). Ambas moléculas tienen una fuerte actividad antibacteriana contra bacterias Gram positivas (Bergsson et al., 2001) o Gram negativas como *Escherichia coli* (Skřivanová et al., 2009), ya sea en forma libre o como MG (Yoon et al., 2018).

Según Mroczek et al. (2005) los AO pueden reducir el contenido de microorganismos patógenos en el pienso y mejorar la productividad al reducir la PWD, ya que reducen el pH de la dieta, manteniendo el equilibrio de la microflora (Torrallardona et al., 2007; Suiryanrayna y Ramana, 2015). El uso de estos compuestos en alimentación animal tiene algunos aspectos negativos como el olor desagradable, la insolubilidad en agua y en algunos casos problemas en la palatabilidad del pienso. Por otro lado, la actividad bactericida de los MCFA depende del pH (Valle et al., 2018; Jackman et al., 2020;) siendo más eficaces a pH inferiores a su pKa, por ser mayor la fracción disociada, por lo que pierden efectividad en pH neutros posteriores al estómago de los animales (Thacker, 2013). Por otro lado, los MG son moléculas más anfifílicas forman micelas de menor tamaño que los MCFA, lo que sugiere que su acción puede ser más potente (Phillips et al., 2021). La

acción de los MG es independiente del pH ya que la molécula es estable a diferentes pH por no disociarse (Gabert y Sauer, 1994). Por esta razón, debido a los diferentes valores de pH a lo largo del GIT, la actividad de los MG es más estable que la de los MCFA.

Otra alternativa es el uso de aceites esenciales (AE), aditivos que forman parte del grupo aromatizantes (Registro de aditivos para piensos de la Unión Europea de acuerdo con el reglamento 1831/2003). Los AE son compuestos bioactivos naturales derivados de plantas o sus análogos sintéticos que en determinadas circunstancias han demostrado reemplazar potencialmente el uso de determinados antibióticos (Valenzuela-Grijalva et al., 2017). Varios estudios han demostrado que los AE pueden dañar la estructura celular del patógeno alterando los lipopolisacáridos de la membrana celular (Vaara, 1992; Sikkema et al.,

1994). Omonijo et al. (2018) explicaron que los AE modifican la estructura y permeabilidad de la célula bacteriana, lo que aumenta la posibilidad de exposición a los AO. En el estudio de Yang et al., (2019) reportan que la adición de diferentes tipos de AE fue eficaz para mejorar el rendimiento y el sistema inmunológico, mejorar la salud intestinal y disminuir la incidencia de PWD.

Con los estudios realizados hasta el momento, se puede afirmar que no hay un único compuesto que sea capaz de reducir el uso de antibióticos en su totalidad. Varios estudios demostraron que la combinación entre los AE y los AO puede ser una alternativa potencial al uso de los antibióticos las primeras semanas posteriores al destete (Walia et al., 2017; Ma et al., 2021). En los estudios de Xu et al., (2017;2020), demostraron que dicha combinación tiene efectos interactivos sobre la salud intestinal de los lechones, ya que supone una mejora de la barrera intestinal y un aumento de la microflora beneficiosa.

El objetivo de este estudio ha sido analizar el efecto de los niveles de proteína junto con la combinación de AO, MG y AE sobre la productividad y la salud de los lechones recién destetados.

3.2. Material y métodos.

3.2.1. Animales experimentales

Se utilizaron un total de 480 lechones cruzados (Duroc x Landrace*Large White) procedentes de la granja El Carrascal (Villagonzalo de Coca, Segovia), mitad machos castrados y mitad hembras. Los lechones se destetaron con 28 días de vida y un peso medio de $5,8 \pm 0,76$ kg, y se distribuyeron en cuadras de 30 lechones cada una al azar de acuerdo con el sexo y el peso vivo.

3.2.2. Diseño experimental

El diseño experimental (Tabla 3.2.2.1) constó de 4 tratamientos: Alta proteína con dosis farmacológicas de óxido de zinc (AP_ZnO); Alta proteína con la mezcla A (AP_A); Baja proteína con la mezcla B (BP_B); Baja proteína con la mezcla A (BP_A). Las combinaciones de aditivos y materias primas elegidos para el estudio son fruto del trabajo realizado por la empresa 3F Feed & Food. La unidad experimental fue una réplica de 30 lechones del mismo sexo alojados conjuntamente, y hubo 4 réplicas por tratamiento.

Tabla 3.2.2.1. *Diseño experimental.*

Tratamiento	Descripción	Dosis (kg/t de alimento)
AP_ZnO	Alta proteína con dosis farmacológicas de óxido de zinc	2,7
AP_A ¹	Alta proteína con una mezcla de AO, MG y AE.	10
BP_B ²	Baja proteína con una mezcla de AO y MG	10
BP_A	Baja proteína con una mezcla de AO, MG y AE.	10

¹A: mezcla de ácidos orgánicos, mono, di y triglicéridos de ácidos orgánicos y aceites esenciales.

²B: mezcla de ácidos orgánicos, mono, di y triglicéridos de ácidos orgánicos.

3.2.3. Dietas experimentales.

Los animales comieron una dieta prestarter común¹ (SETNA NUTRICIÓN) durante la primera semana postdestete, momento en el que fueron asignados al azar a cada una de las cuatro dietas experimentales. Las dietas experimentales fueron formuladas para satisfacer las necesidades de los animales de acuerdo con FEDNA² para lechones a estas edades. La

¹Trigo extrusionado, haba de soja extrusionada, arroz extrusionado, trigo, cebada, suero dulce, dextrosa, plasma porcino, harina de pescado, aceite de soja, permeato de lactosa, fosfato monocálcico, concentrado de soja, ácido cítrico, carbonato cálcico, L-Lisina, L-Treonina, DL Metionina, L-Valina, triptófano, óxido de zinc, corrector. Aportaba 2.640 kcal/kg de energía neta, 18,4% de proteína bruta, 1,3% de lisina digestible, 7,15% de extracto etéreo, 5,5% de lactosa, 0,69% de Ca, 0,40% de fósforo digestible.

composición de las dietas se muestra en la Tabla 3.2.3.1. y su valor estimado en la Tabla 3.2.3.2. Las dietas fueron granuladas a 70°C (a la salida de matriz aproximadamente) con un diámetro de 3,5mm, y fueron ofrecidas hasta los 72d de vida *ad libitum*.

Tabla 3.2.3.1. Dietas experimentales (AP_ZnO: Alta proteína con dosis farmacológicas de óxido de zinc; AP_A: Alta proteína con una mezcla de ácidos orgánicos, mono, di y triglicéridos de ácidos orgánicos y aceites esenciales; BP_B: Baja proteína con una mezcla de ácidos orgánicos y mono, di y triglicéridos de ácidos orgánicos; BP_A: Baja proteína con una mezcla de ácidos orgánicos, mono, di y triglicéridos de ácidos orgánicos y aceites esenciales).

Ingredientes, %	AP_ZnO ³	AP_A	BP_B	BP_A
Cebada	25,50	24,50	39,86	39,86
Trigo	29,54	29,54	19,49	19,49
Harina de soja 47 %	18,30	18,30	9,64	9,64
Glicerina	0,99	0,99	1,00	1,00
Trigo bajo proteína	1,52	1,52	-	-
Cuartas de trigo	1,56	1,56	5,76	5,76
Harina de galletas	9,83	9,83	9,84	9,84
Cáscara de guisante	3,96	3,96	3,96	3,96
Grasa animal	2,68	2,68	3,20	3,20
Fosfato monocálcico	1,04	1,04	1,04	1,04
Carbonato cálcico	0,96	0,96	1,00	1,00
Sal	0,24	0,24	0,24	0,24
Cloruro de colina líquida 75 %	0,03	0,03	0,04	0,04
Bht antioxidante	0,01	0,01	0,01	0,01
Otros	0,07	0,07	0,07	0,07
Lisina 50 % líquida	0,96	0,96	1,33	1,33
Metionina 88 %	0,24	0,24	0,32	0,32
Treonina	0,25	0,28	0,36	0,36
L-Valina	0,14	0,14	0,28	0,28
Triptófano 10%	0,51	0,51	0,87	0,87
Premix ³	0,30	0,30	0,30	0,30
Premezcla de óxido de zinc ⁴	0,27	-	-	-
Mezcla de ácidos orgánicos, mono, di y triglicéridos de ácidos orgánicos de cadena media y aceites esenciales (A) ⁵	-	1,00	-	1,00
Mezcla de ácidos orgánicos, mono, di y triglicéridos de ácidos orgánicos de cadena media (B) ⁶	-	-	1,00-	-

³Aportado por kg de dieta: Vitamina A (3a672a, acetato de retinol): 10.000 IU; Vitamina D3 (3a671, colecalciferol): 2.000 IU; Vitamina E (3a700, alfatocoferol): 100 IU; Vitamina B12 (cianocobalamina): 0,033 mg; Vitamina B6 (3a831, clorhidrato de piridoxina): 4 mg; Vitamina K3(3a710, bisulfito de sodio menadiona): 5 mg; Vitamina B1 (3a821, mononitrato de tiamina): 1,5 mg; Vitamina B2 (3a825i, riboflavina): 5 mg; Niacina (3a314): 25 mg; Pantotenato cálcico: 20 mg; Ácido fólico (3a316): 1 mg; Biotina (3a880): 0,1 mg; Cloruro de colina (3a890): 100 mg; Betaína (3a925, clorhidrato de betaína): 0,05 mg; Manganeso (3b502, óxido de manganeso (II)): 100 mg; Selenio (3b801, selenito de sodio): 0,2 mg; Zinc (3b603, óxido de zinc): 115 mg; Cobre (3b405, sulfato de cobre (II) pentahidratado): 90 mg; Iodo (3b201, yoduro potásico): 2 mg ; Hierro (3b103, sulfato de hierro (II) monohidratado): 0,1 mg.

⁴Premezcla de óxido de zinc = Zincotrax (96 g óxido de zinc / kg)

⁵Mezcla aportada por 3F Feed & Food.

⁶Mezcla aportada por 3F Feed & Food.

Tabla 3.2.3.2. Valor estimado de las dietas experimentales. (Dietas experimentales (AP_ZnO: Alta proteína con dosis farmacológicas de óxido de zinc; AP_A: Alta proteína con una mezcla de ácidos orgánicos, mono, di y triglicéridos de ácidos orgánicos y aceites esenciales; BP_B: Baja proteína con una mezcla de ácidos orgánicos y mono, di y triglicéridos de ácidos orgánicos; BP_A: Baja proteína con una mezcla de ácidos orgánicos, mono, di y triglicéridos de ácidos orgánicos y aceites esenciales).

Nutriente, %	AP_ZnO	AP_A	BP_B	BP_A
Humedad	10,55	10,55	10,68	10,68
Materia seca	89,45	89,45	89,32	89,32
Energía neta, kcal/kg	2333	2333	2334	2334
Proteína bruta	18,72	18,72	16,06	16,06
Lisina	1,30	1,30	1,29	1,29
Lisina SID ⁷	1,19	1,19	1,19	1,19
Metionina	0,47	0,47	0,51	0,51
Metionina SID	0,44	0,44	0,48	0,48
Metionina+Cisteína	0,80	0,80	0,80	0,80
Metionina+Cisteína SID	0,73	0,73	0,72	0,72
Arginina	1,03	1,03	0,79	0,79
Triptófano	0,27	0,27	0,26	0,26
Triptófano SID	0,24	0,24	0,24	0,24
Treonina	0,87	0,87	0,86	0,86
Treonina SID	0,78	0,78	0,78	0,78
Valina	0,94	0,94	0,93	0,93
Valina SID	0,84	0,84	0,83	0,83
Isoleucina	0,69	0,69	0,54	0,54
Isoleucina SID	0,61	0,61	0,46	0,46
Arginina SID	0,94	0,94	0,71	0,71
Grasa	4,83	4,83	5,50	5,50
Fibra bruta	4,04	4,04	4,37	4,37
Fibra ácido detergente	5,27	5,27	5,67	5,67
Fibra neutro detergente	12,11	12,11	13,92	13,92
Almidón	36,81	36,81	38,42	38,42
Cenizas	5,84	5,84	5,62	5,62
Calcio	0,78	0,78	0,78	0,78
Fósforo total	0,65	0,65	0,64	0,64
Fósforo fítico	0,25	0,25	0,25	0,25
Fósforo SID	0,38	0,38	0,38	0,38
Calcio/ Fósforo	1,20	1,20	1,22	1,22
Sodio	0,21	0,21	0,21	0,21
Potasio	0,76	0,76	0,62	0,62

²Basado en valores de ingredientes para nutrición animal FEDNA (2010).

⁷SID: digestible estandarizada.

3.2.4. Análisis.

La composición de las dietas fue analizada para humedad por secado en estufa (930.15), cenizas por incineración (942.05), proteína por el método Kjeldahl (984.13), el extracto etéreo por análisis de grasa Soxhlet (920.39), como se describe en el AOAC (International, 2012, 19th ed.), el almidón por el método polarimétrico y la fibra bruta por el método Weende.

Los resultados analíticos de las dietas se muestran en la Tabla 3.2.4.1.

Tabla 3.2.4.1. Análisis nutricional de las dietas experimentales (medias de dos análisis). (Dietas experimentales (AP_ZnO: Alta proteína con dosis farmacológicas de óxido de zinc; AP_A: Alta proteína con una mezcla de ácidos orgánicos, mono, di y triglicéridos de ácidos orgánicos y aceites esenciales; BP_B: Baja proteína con una mezcla de ácidos orgánicos y mono, di y triglicéridos de ácidos orgánicos; BP_A: Baja proteína con una mezcla de ácidos orgánicos, mono, di y triglicéridos de ácidos orgánicos y aceites esenciales).

Análisis, %	AP_ZnO	AP_A	BP_B	BP_A
Materia seca	91,0	90,1	90,5	90,0
Proteína bruta	18,5	18,6	16,8	16,5
Fibra bruta	5,0	4,2	4,2	4,2
Cenizas	5,3	5,5	5,3	5,0
Almidón	37,7	37,1	38,3	37,8
Extracto etéreo	5,0	5,0	5,7	5,3

3.2.5. Instalaciones experimentales.

Las instalaciones experimentales estuvieron situadas en La Nava de Arévalo, Ávila. Los animales experimentales se alojaron al azar en 16 réplicas. Cada cuadra medía 7,4m² útiles (densidad: 0,25 m²/cerdo hasta 20kg). La nave poseía un sistema de iluminación natural (ventanas a ambos lados) y artificial no programable. Las cuadras tenían suelo de hormigón con rejilla y el sistema de ventilación se regulaba mediante ventiladores conectados a un sensor de temperatura. La temperatura se ajustó semanalmente de acuerdo con la edad de los animales. Las dietas y el agua se ofrecieron *ad libitum* mediante un comedero de hormigón con tolva (93x33cm²) de 4 bocas (14cm de diámetro) y los bebederos de cazoleta situados en el interior de cada cuadra.

3.2.6. Parámetros analizados y cálculo de parámetros.

Se tomó el peso de los animales al inicio de la prueba para equilibrar los tratamientos, al cambio de dieta de prestarter a experimental a los 8 días posdestete (36d de vida), a los 29d posdestete (57d de vida) y a los 46d posdestete (72d de vida). Se anotaron las bajas y los animales retirados con su causa, su fecha y su peso. Con los incrementos de peso por réplica se calculó la ganancia media diaria. El consumo de pienso por réplica se controló en los controles de peso efectuados, y con ello se calculó el consumo de pienso medio diario por réplica. El índice de transformación por réplica se calculó como el cociente entre el consumo de pienso medio y la ganancia de peso medio por réplica y se expresa en g/g.

3.2.7. Análisis estadístico.

Los datos fueron analizados mediante un análisis de varianza por el procedimiento lineal. El modelo incluyó el peso inicial como covariable, y el tratamiento experimental. Los datos se expresan por medias corregidas por mínimos cuadrados, y se realizó una comparación de medias corregidas por Bonferroni.

$$Y_{ij} = \text{Peso}_{0j} + \text{Tratamiento}_i + \varepsilon_{ij}$$

Los datos de mortalidad se analizaron como variables no continuas, mediante una prueba χ^2 y se expresan como el porcentaje de animales fallecidos o retirados de prueba por tratamiento.

3.3. Resultados.

3.3.1. Productividad.

Los lechones se destetaron con 28 días de vida y un peso medio de $5,75 \pm 0,76$ kg, con medias de 5,76, 5,77, 5,75 y 5,73 kg para AP_ZnO, AP_A, BP_B y BP_A, respectivamente, ($P=0,999$). Tras comer el pienso prestarter común, los lechones alcanzaron un peso de $6,93 \pm 0,82$ kg con medias de 7,11, 6,85, 6,84, y 6,92 kg para AP_ZnO, AP_A, BP_B y BP_A, respectivamente, ($P=0,973$).

El efecto del tratamiento sobre el peso se muestra en la Tabla 3.3.1.1. Los lechones que habían consumido dietas ricas en proteína y suplementadas con A (AP_A) mostraron los mayores valores de peso a 57d de vida (14,48, 15,59, 13,66 y 14,03 kg, para AP_ZnO, AP_A, BP_B y BP_A, respectivamente, $P<0,05$). Los lechones que consumieron dietas altas en proteína mostraron mayores valores de peso a los 72d (22,63 y 22,46 kg (AP_ZnO y AP_A) vs 20,21 y 20,90 kg (BP_B y BP_A, $P<0,05$). Se observa que entre los animales que consumieron dietas con alta proteína, no hay diferencias significativas entre la suplementación con óxido de zinc y A, a 72d (22,63 y 22,46 kg, para AP_ZnO y AP_A, respectivamente). Por otro lado, los lechones que consumieron dietas bajas en proteína suplementados con B (BP_B) mostraron los pesos más bajos a 57d (13,66 kg vs 14,48, 15,59 y 14,03 kg (BP_B vs AP_ZnO, AP_A y BP_A, $P<0,05$)) y a 72d (20,21 kg vs 22,63, 22,46 y 20,90 kg (BP_B vs AP_ZnO, AP_A y BP_A, $P<0,05$)). Asimismo, entre los animales que consumieron dietas bajas en proteína (BP_B y BP_A), se observa una mejoría al añadir los aceites esenciales a 57d (13,66 kg vs 14,03 kg, para BP_B y BP_A, respectivamente) y a 72d (20,21 kg vs 20,90 kg, para BP_B y BP_A, respectivamente).

Tabla 3.3.1.1. Efecto del tratamiento sobre el peso a los 57 y 72d de vida. (Dietas experimentales (AP_ZnO: Alta proteína con dosis farmacológicas de óxido de zinc; AP_A: Alta proteína con una mezcla de ácidos orgánicos, mono, di y triglicéridos de ácidos orgánicos y aceites esenciales; BP_B: Baja proteína con una mezcla de ácidos orgánicos y mono, di y triglicéridos de ácidos orgánicos; BP_A: Baja proteína con una mezcla de ácidos orgánicos, mono, di y triglicéridos de ácidos orgánicos y aceites esenciales).

Tratamiento	PESO (kg) 57d	PESO (kg) 72d
AP_ZnO	14,48 ^{ab}	22,63 ^a
AP_A	15,59 ^a	22,46 ^a
BP_B	13,66 ^b	20,21 ^b
BP_A	14,03 ^{ab}	20,90 ^{ab}
EEM ¹ (n=4)	0,460	0,391
Peso 36d	<0,001	<0,001
Tratamiento	0,061	0,003

*Medias con distinto superíndice son distintos.

¹EEM. Error Estándar de la media.

El efecto del tratamiento sobre la productividad entre 36 y 57d de vida se muestra en la Tabla 3.3.1.2. Los lechones que consumieron dietas con alta proteína (AP_ZnO y AP_A) mostraron un mayor crecimiento que los que consumieron dietas con baja proteína (BP_B y BP_A), (360, 413, 321 y 338 g/d para AP_ZnO, AP_A, BP_B y BP_A, respectivamente, P=0,061), aunque no existen diferencias significativas con los lechones que fueron suplementados con A hay una tendencia hacia un mayor crecimiento los lechones suplementados con A. Los lechones que habían consumido dietas altas en proteína (AP_ZnO y AP_A) mostraron mayores consumos de pienso que los que consumían dietas con baja proteína (BP_B y BP_A), mostrando diferencias significativas con los lechones que consumieron dietas con baja proteína suplementados con B (516, 513, 450 y 460 g/d para AP_ZnO, AP_A, BP_B y BP_A, respectivamente, P<0,05). No hubo diferencias significativas para el índice de transformación (1,483, 1,244, 1,405 y 1,359 g/g para AP_ZnO, AP_A, BP_B y BP_A, respectivamente, P>0,05).

Tabla 3.3.1.2. Efecto del tratamiento sobre el crecimiento, el consumo de pienso e índice de transformación entre 36 y 57d de vida. Dietas experimentales (AP_ZnO: Alta proteína con dosis farmacológicas de óxido de zinc; AP_A: Alta proteína con una mezcla de ácidos orgánicos, mono, di y triglicéridos de ácidos orgánicos y aceites esenciales; BP_B: Baja proteína con una mezcla de ácidos orgánicos y mono, di y triglicéridos de ácidos orgánicos; BP_A: Baja proteína con una mezcla de ácidos orgánicos, mono, di y triglicéridos de ácidos orgánicos y aceites esenciales).

Tratamiento	Crecimiento (g/d)	Consumo de pienso (g/d)	Índice transformación (g/g)
AP_ZnO	360	516 ^a	1,483
AP_A	413	513 ^a	1,244
BP_B	321	450 ^b	1,405
BP_A	338	460 ^{ab}	1,359
EEM ¹ (n=4)	22	13	0,101
Peso 36d	0,302	<0,001	0,227
Tratamiento	0,061	0,008	0,445

*Medias con distinto superíndice son distintos.

¹EEM. Error Estándar de la media.

El efecto del tratamiento sobre la productividad entre 57 y 72d de vida se muestra en la Tabla 3.3.1.3. No hubo diferencias significativas ni para el crecimiento (543, 458, 436 y 458 g/d para AP_ZnO, AP_A, BP_B y BP_A, respectivamente, P>0,05), ni para el consumo de pienso (703, 649, 630 y 632 g/d para AP_ZnO, AP_A, BP_B y BP_A, respectivamente, P>0,05), ni para el índice de conversión (1,334, 1,418, 1,452 y 1,378 g/g para AP_ZnO, AP_A, BP_B y BP_A, respectivamente, P>0,05).

Tabla 3.3.1.3. Efecto del tratamiento sobre el crecimiento, el consumo de pienso e índice de transformación entre 57 y 72d de vida. Dietas experimentales (AP_ZnO: Alta proteína con dosis farmacológicas de óxido de zinc; AP_A: Alta proteína con una mezcla de ácidos orgánicos, mono, di y triglicéridos de ácidos orgánicos y aceites esenciales; BP_B: Baja proteína con una mezcla de ácidos orgánicos y mono, di y triglicéridos de ácidos orgánicos; BP_A: Baja proteína con una mezcla de ácidos orgánicos, mono, di y triglicéridos de ácidos orgánicos y aceites esenciales).

Tratamiento	Crecimiento (g/d)	Consumo de pienso (g/d)	Índice transformación (g/g)
AP_ZnO	543	703	1,334
AP_A	458	649	1,418
BP_B	436	630	1,452
BP_A	458	632	1,378
EEM ¹ (n=4)	32	24	0,057
Peso 36d	0,016	0,006	0,249
Tratamiento	0,157	0,184	0,531

*Medias con distinto superíndice son distintos.

¹EEM. Error Estándar de la media.

El efecto del tratamiento sobre la productividad para el conjunto del ensayo (entre 36 y 72d) de vida se muestra en la Tabla 3.3.1.4. No hubo diferencias en el crecimiento entre los lechones que consumieron dietas con alta proteína (AP_ZnO y AP_A), con valores similares para los que fueron suplementados con óxido de zinc y A (436 y 431 g/d para AP_ZnO y AP_A). Los menores pesos los muestran los lechones que consumieron dietas con baja proteína suplementados con B (BP_B) existiendo diferencias significativas con los lechones que consumieron dietas con alta proteína (AP_ZnO y AP_A), (436, 431 y 369 g/d para AP_ZnO, AP_A y BP_B, respectivamente, $P < 0,05$). En el consumo de pienso, los lechones que fueron suplementados con óxido de zinc y alta proteína (AP_ZnO) fue mayor que los que consumieron dietas con baja proteína (BP_B y BP_A), (594, 525 y 532 g/d para AP_ZnO, BP_B y BP_A, respectivamente, $P < 0,05$). No hubo diferencias significativas en el índice de transformación entre los lechones que consumieron dietas con alta proteína, con valores similares para los que consumieron óxido de zinc y A (1,362 y 1,319 g/g para AP_ZnO y AP_A). Sin embargo, si existen con los que consumieron la dieta baja en proteína suplementada con B (BP_B), (1,362, 1,319 vs 1,424 g/g para AP_ZnO, AP_A y BP_B, respectivamente, $P < 0,05$).

Tabla 3.3.1.4. Efecto del tratamiento sobre el crecimiento, el consumo de pienso e índice de transformación entre 36 y 72d de vida. Dietas experimentales (AP_ZnO: Alta proteína con dosis farmacológicas de óxido de zinc; AP_A: Alta proteína con una mezcla de ácidos orgánicos, mono, di y triglicéridos de ácidos orgánicos y aceites esenciales; BP_B: Baja proteína con una mezcla de ácidos orgánicos y mono, di y triglicéridos de ácidos orgánicos; BP_A: Baja proteína con una mezcla de ácidos orgánicos, mono, di y triglicéridos de ácidos orgánicos y aceites esenciales).

Tratamiento	Crecimiento (g/d)	Consumo de pienso (g/d)	Índice transformación (g/g)
AP_ZnO	436 ^a	594 ^a	1,362 ^a
AP_A	431 ^a	569 ^{ab}	1,319 ^a
BP_B	369 ^b	525 ^b	1,424 ^b
BP_A	388 ^{ab}	532 ^b	1,369 ^{ab}
EEM ¹ (n=4)	11	15	0,014
Peso 36d	<0,001	<0,001	0,813
Tratamiento	0,003	0,027	0,002

*Medias con distinto superíndice son distintos.

¹EEM. Error Estándar de la media.

3.1.1. Mortalidad y retirados de la prueba.

Antes del inicio de las dietas experimentales, entre 28 y 36d de vida, hubo una baja perteneciente a AP_ZnO y se retiró un lechón del BP_B, que no se han tenido en cuenta para el análisis.

En cuanto al efecto del tratamiento sobre la incidencia de bajas y eliminados de prueba entre 36 y 72d de vida se muestra en la Tabla 3.3.2.1. No hubo un efecto del tratamiento sobre el total de animales que causaron baja por una u otra razón, con 4, 2, 3 y 3 bajas de AP_ZnO, AP_A, BP_B y BP_A respectivamente (3,3, 1,7, 2,5 y 2,5% para AP_ZnO, AP_A, BP_B y BP_A, respectivamente, P>0,05).

Tabla 3.3.2.1. Efecto del tratamiento sobre la incidencia de bajas y eliminados de la prueba entre 36 y 72d de vida. Dietas experimentales (AP_ZnO: Alta proteína con dosis farmacológicas de óxido de zinc; AP_A: Alta proteína con una mezcla de ácidos orgánicos, mono, di y triglicéridos de ácidos orgánicos y aceites esenciales; BP_B: Baja proteína con una mezcla de ácidos orgánicos y mono, di y triglicéridos de ácidos orgánicos; BP_A: Baja proteína con una mezcla de ácidos orgánicos, mono, di y triglicéridos de ácidos orgánicos y aceites esenciales).

Tratamiento	Mortalidad (%)
AP_ZnO	3,3
AP_A	1,7
BP_B	2,5
BP_A	2,5
P	0,877

*Medias con distinto superíndice son distintos.

3.4. Discusión.

La PWD es un problema en la producción porcina tanto a nivel económico como de bienestar animal. Son muchos los factores que afectan a la aparición de PWD tanto infecciosos como no infecciosos, se debe trabajar sobre ellos para disminuir su aparición, sobre todo, las primeras semanas posteriores al destete.

Uno de los factores no infecciosos con mayor importancia relacionado con la PWD es el cambio de alimentación (de leche a pienso) ya que conlleva una reducción del consumo de pienso los primeros días posteriores al destete. Se producen cambios en el tracto gastrointestinal dejando un sistema inmune débil, lo que permite la proliferación de bacterias patógenas facilitando la aparición de PWD. Se ha observado que una ingesta óptima de alimento horas posteriores al destete disminuye el riesgo de PWD. Una posibilidad que se ha valorado sería que los lechones en los primeros días posteriores al destete fueran alimentados con una dieta similar a la que consumían antes del destete para asegurar un consumo rápido de pienso.

En el presente ensayo, una de las alternativas que se proponía era la reducción de la PB. Con ello, se pretendía conseguir que llegara una menor cantidad de PB no digerida al final del tracto gastrointestinal. Tal y como explican (De Lange et al., 2010; O'Doherty et al., 2017) la PB no digerida que llega al intestino grueso puede ser fermentada por bacterias proteolíticas, lo que da como resultado la proliferación de bacterias patógenas y la producción de metabolitos tóxicos tales como amoníaco, aminos o fenoles, lo que puede favorecer la aparición de PWD. En nuestro estudio, los lechones que comían dietas bajas en proteína han mostrado una peor productividad que aquellos alimentados con dietas altas en proteína. Estos resultados contrastan con otros ensayos en los que los animales que consumen dietas bajas en proteína (hasta 17%) muestran un rendimiento similar a los que consumen dietas ricas en proteína (Le Bellego y Noblet, 2002), sin embargo, coinciden con otros estudios (Yu et al., 2019) donde explican que las dietas bajas en proteínas tienen como resultado la alteración de la morfología intestinal a través de la inhibición del crecimiento de los marcadores de células madre intestinales. En nuestro caso, es posible que algún aminoácido esencial haya podido ser limitante, tales como isoleucina o arginina, dado que solo se controlaron en la formulación lisina, metionina, treonina, triptófano y valina. Como explica Powell et al., (2011) la suplementación de valina e isoleucina a dietas bajas en proteínas supuso una mejora en la ganancia media diaria. Sin embargo, sorpresivamente, no tuvo una incidencia en la salud de los animales como se esperaba por

la limitación de sustrato fermentable que llega a los tramos inferiores del intestino (Heo et al., 2008), ya que no se observaron problemas en las dietas altas en proteína.

Otra alternativa que se probó en este ensayo fue el uso de materias primas y aditivos. La combinación de AO, MG y los AE sustituyó con éxito el uso del óxido de zinc a dosis farmacológicas en las dietas ricas en proteína. Esto puede ser explicado porque los AO en lechones reducen el pH del estómago, formando una barrera antibacteriana, mejoran la digestibilidad de la proteína (Suiryanrayna y Ramana, 2015), mejoran el crecimiento y el índice de conversión de los lechones, disminuyendo la aparición de diarrea (Ma et al., 2021). Los MG tienen una capacidad de regulación de la flora bacteriana que no depende del pH, por lo que actúan sinérgicamente con los ácidos orgánicos, ayudando a reemplazar el uso del óxido de zinc a dosis farmacológicas. Estos resultados confirman los observados por Phillips et al., (2021), indicando una reducción de diarreas en lechones recién destetados en los que se incluyó una mezcla de MG en la dieta.

Por otro lado, también se ha observado que los AE mejoran el rendimiento y la productividad de los lechones sin afectar negativamente la adición de estos al consumo de pienso, lo que explican también en el estudio de Tan et al., (2021). Asimismo, al igual que en el estudio de Xu et al., (2017), se observó que la adición de AE reforzó la actividad de los AO a la dieta baja en proteína compensando parcialmente el efecto negativo de la bajada de proteína en la dieta.

Se concluye que bajo las condiciones en las que se realizó este ensayo: i) la bajada de proteína de la dieta redujo los índices productivos, ii) la adición de 10kg/t de una mezcla de ácidos orgánicos, mono, di y triglicéridos de ácidos orgánicos y aceites esenciales (A) mantuvo unos rendimientos similares a dosis farmacológicas del óxido de zinc en las dietas altas en proteína sin afectar negativamente a la salud, iii) la adición de AE a la mezcla de AO y MG supuso una mejora de resultados productivos en las dietas bajas en proteína.

3.5. Bibliografía.

- Bergsson, G., Arnfinnsson, J., Steingrímsson, O., Thormar, H., 2001. In vitro killing of *Candida albicans* by fatty acids and monoglycerides. *Antimicrob. Agents Chemother.* 45, 3209-3212. <https://doi.org/10.1128/AAC.45.11.3209-3212.2001>.
- Canfora, E.E., Jocken, J.W., Blaak, E., 2015. Short-chain fatty acids in control of body weight and insulin sensitivity. *Nat. Rev. Endocrinol.* 11, 577-591. <https://doi.org/10.1038/nrendo.2015.128>.
- De Lange, C.F.M., Pluske, J.R., Gong, J., Naychoti, C.M., 2010. Strategic use of feed ingredients and feed additives to stimulate gut health and development in young pigs. *Livest. Sci.* 134, 124-134. <https://doi.org/10.1016/j.livsci.2010.06.117>.
- Den Besten, G., van Eunen, K., Groen, A.K., Venema, K., Reijngoud, D-J., Bakker, B.M., 2013. The role of short-chain fatty acids in the interplay between diet, gut microbiota, and host energy metabolism. *J. Lipid. Res.* 54, 2325-2340. <https://doi.org/10.1194/jlr.R036012>.
- Gabert, V.M., Sauer, W.C., 1994. The effects of supplementing diets for weaning pigs with organic acids. A review. *J. Anim. Feed Sci.* 3, 73-87. <https://doi.org/10.22358/jafs/69821/1994>.
- Goodband, B., DeRouchey, J., Tokach, M, Dritz, S., Nelssen, J., 2006. Strategies for feeding weaned pigs. *Proc. London Swine Conf.*
- Heo, J.M., Kim, J.C., Hansen, C.F., Mullan, B.P., Hampson, D.K., Pluske, J.R., 2008. Effects of feeding low protein diets to piglets on plasma urea nitrogen, faecal ammonia nitrogen, the incidence of diarrhoea and performance after weaning. *Arch. Anim. Nutr.* 62, 343-358. <https://doi.org/10.1080/17450390802327811>.
- Heo, J.M., Kim, J.C., Hansen, C.F., Mullan, B.P., Hampson, D.J., Maribo, H., Kjeldsen, N., Pluske, J.R., 2010. Effects of dietary protein level and zinc oxide supplementation on the incidence of post-weaning diarrhoea in weaner pigs challenged with and enterotoxigenic strain of *Escherichia coli*. *Livestock Science* 133, 210-213. <https://doi.org/10.1016/j.livsci.2010.06.066>.

- Hijova, E., Chmelarova, A., 2007. Short chain fatty acids and colonic health. *Bratisl. Lek. List.* 108, 354-358.
- Jackman, J. A., Boyd, R. D., Elrod, C. C., 2020. Medium-chain fatty acids and monoglycerides as feed additives for pig production: Towards gut health improvement and feed pathogen mitigation. *J. Anim. Sci. Biotechnol.* 11, 44. <https://doi.org/10.1186/s40104-020-00446-1>.
- Le Bellego., L., Noblet, J., 2002. Performance and utilization of dietary energy and amino acids in piglets fed low protein diets. *Livest Prod. Sci.* 76, 45-58. [https://doi.org/10.1016/S0301-6226\(02\)00008-8](https://doi.org/10.1016/S0301-6226(02)00008-8).
- Le Dividich, J., Sève, B., 2000. Energy requirement of the young piglet. Chapter 2 In: Wiseman, J., (Ed.), *The Weaner Pig*. CAB International, Oxford, in press.
- Ma, J., Piao, X., Shang, Q., Long, S., Liu, S., Mahfuz, S., 2021. Mixed organic acids as an alternative to antibiotics improve serum biochemical parameters and intestinal health of weaned piglets. *Anim. Nutr.* 7, 737-749. <https://doi.org/10.1016/j.aninu.2020.11.018>.
- Ma, J., Long, S., Wang, J., Gao, J., Piao, X., 2022. Microencapsulated essential oils combined with organic acids improves immune antioxidant capacity and intestinal barrier function as well as modulates the hindgut microbial community in piglets. *J. Anim. Sci. Biotechnol.* 13, 16. <https://doi.org/10.1186/s40104-021-00670-3>.
- Mateos, G., Kadardar, H., Dardabou, L., Fernández, A., Luna, N., Aguirre, L., 2021. Estrategias nutricionales para la prevención y control de procesos digestivos en lechones posdestete en ausencia de óxido de zinc en el pienso (I). *Suis*, 178.
- Morel, P.C.H., Chidgey, K.L., Jenkinson, C.M.C., Lizarraga, I., Shreurs, N.M., 2019. Effect of benzoic acid, sodium butyrate and sodium butyrate coated with benzoic acid on growth performance, digestibility, intestinal morphology and meat quality in grower-finisher pigs. *Livest. Sci.* 226, 107-113. <https://doi.org/10.1016/j.livsci.2019.06.009>.
- Mroczek, I., Frankiewicz, A., Selwet, M., 2005. The effect of acidifying additives on the microbiological stability of feed mixtures. *J. Anim. Feed Sci.* 14, 385-388. <https://doi.org/10.22358/jafs/70586/2005>.

- Nowak, P., Zaworska-Zakrzewska, A., Frankiewicz, A., Kasproicz-Potocka, M., 2021. The effects and mechanisms of acids on the health of piglets and weaners – a review. *Ann. Anim. Sci.* 21, 433-455. <https://doi.org/10.2478/aoas-2020-0088>.
- O’Doherty, J.V., Bouwhuis, M.A., Sweeney, T., 2017. Novel marine polysaccharides and maternal nutrition to stimulate gut health and performance in post-weaned pigs. *Anim. Prod. Sci.* 57, 2376-2385. <https://doi.org/10.1071/AN17272>.
- Omonijo, F.A., Ni, L., Gong, J., Wang, Q., Lahaye, L., Yang, C., 2018. Essential oils as alternatives to antibiotics in swine production. *Anim. Nutr.* 4, 126-136. <https://doi.org/10.1016/j.aninu.2017.09.001>.
- Phillips, F.C., Rubach, J.K., Poss, M.J., Anam, S., Goyal, S.M., Dee, S.A., 2021. Monoglyceride reduces viability of porcine epidemic diarrhoea virus in feed and prevents disease transmission to post-weaned piglets. *Transbound. Emerg. Dis.* 69, 121-127. <https://doi.org/10.1111/tbed.14353>.
- Powell, S., Bidner, T.D., Payne, R.L., Southern, L., 2011. Growth performance of 20– to 50– kilogram pigs fed low-crude-protein diets supplemented with histidine, cystine, glycine, glutamic acid, or arginine. *J. Anim. Sci.* 89, 3643-3650. <https://doi.org/10.2527/jas.2010-3757>.
- Pluske, J. R., Pethick, D. W., Hopwood, D. E., Hampson, D. J., 2002. Nutritional influences on some major enteric bacterial diseases of pig. *Nutr. Res. Rev.* 15, 333-371. <https://doi.org/10.1079/nrr200242>.
- Pluske, J.R., Turpin, D.L., Kim, J.C., 2018. Gastrointestinal tract (gut) health in the young pig. *Anim. Nutr.* 4, 187-196. <https://doi.org/10.1016/j.aninu.2017.12.004>.
- Regulation (EC) N° 1831/2003, of the European Parliament and of the Council of 22 September 2003 on additives for use in animal nutrition. *O. J. E. U.* 268, 29–43.
- Sikkema, J., De Bont, J.A., Poolman, B., 1994. Interactions of cyclic hydrocarbons with biological membranes. *J. Biol. Chem.* 269, 8022-8028. [https://doi.org/10.1016/S0021-9258\(17\)37154-5](https://doi.org/10.1016/S0021-9258(17)37154-5).

- Skřivanová, E., Molatová, Z., Skřivanová, V., Marounek, M., 2009. Inhibitory activity of rabbit milk and medium-chain fatty acids against enteropathogenic *Escherichia coli* O128. *Vet. Microbiol.* 135, 358-362. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2008.09.083>.
- Suiryanrayna M., Ramana, J. V., 2015. A review of the effects of dietary organic acids fed to swine. *J. Anim. Sci. Biotechnol.* 6, 45. <https://doi.org/10.1186/s40104-015-0042-z>.
- Tan, B.F., Lim, T., Boontiam, W., 2021. Effect of dietary supplementation with essential oils and a *Bacillus* probiotic on growth performance, diarrhoea and blood metabolites in weaned pigs. *Anim. Prod. Sci.* 61, 64-71. <https://doi.org/10.1071/AN18752>.
- Thacker, P.A., 2013. Alternatives to antibiotics as growth promoters for use in swine production: a review. *J. Anim. Sci. Biotechnol.* 4, 35. <https://doi.org/10.1186/2049-1891-4-35>.
- Torrallardona, D., Badiola, I., Broz, J., 2007. Effects of benzoic acid on performance and ecology of gastrointestinal microbiota in weanling piglets. *Livest. Sci.* 108, 210-213. <https://doi.org/10.1016/j.livsci.2007.01.062>.
- Vaara, M., 1992. Agents that increase the permeability of the outer membrane. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* 56, 395-411. <https://doi.org/10.1128/mr.56.3.395-411.1992>.
- Valenzuela-Grijalva, N. V., Pinelli-Saavedra, A., Muhlia-Almazan, A., Domínguez-Díaz, D., González-Ríos, H., 2017. Dietary inclusion effects of phytochemicals as growth promoters in animal production. *J. Anim. Sci. Technol.* 59, 8. <https://doi.org/10.1186/s40781-017-0133-9>.
- Valle-González, E.R., Jackman, J.A., Yoon, B.K., Park, S., Sut, T.N., Cho, N.J., 2018. Characterizing how acidic pH conditions affects the membrane-disruptive activities of lauric acid and glycerol monolaurate. *Langmuir* 34, 13745-13753. <https://doi.org/10.1021/acs.langmuir.8b02536>.
- Walia, K., Argüello, H., Lynch, H., Leonard, F.C., Grant, J., Yearsley, D., Kelly, S., Duffy, G., Gardiner, G.E., Lawlor, P.G., 2017. Effect of strategic administration of an encapsulated blend of formic acid, citric acid, and essential oils on *Salmonella* carriage, seroprevalence, and growth of finishing pigs. *Prev. Vet. Med.* 137, 28-35. <http://dx.doi.org/10.1016/j.prevetmed.2016.12.007>.

- Wang, Y., Zhou, J., Wang, G., Zeng, X., Qiao, S., 2018. Advances in low-protein diets for swine. *J. Anim. Sci. Biotechnol.* 9, 60. <https://doi.org/10.1186/s40104-018-0276-7>.
- Wellock, I.J., Fortomaris, P.D., Houdijk, J.G.M., Kyriazakis, I., 2007. Effect of weaning age, protein nutrition and enterotoxigenic *Escherichia coli* challenge on the health of newly weaned piglets. *Livest. Sci.* 108, 102-105. <https://doi.org/10.1016/j.livsci.2007.01.004>.
- Wu, Y., Jiang, Z., Zheng, C., Wang, L., Zhu, C., Yang, X., Wen, X., Ma, X., 2015. Effects of protein sources and levels in antibiotic-free diets on diarrhea, intestinal morphology, and expression of tight junctions in weaned piglets. *Anim. Nutr.* 1, 170-176. <https://doi.org/10.1016/j.aninu.2015.08.013>.
- Xu, Y.T., Liu, L., Long, S.F., Pan, L., Piao, X.S., 2017. Effect of organic acids and essential oils on performance, intestinal health and digestive enzyme activities of weaned pigs. *Anim. Feed Sci. Technol.* 235, 110-119.
- Xu, Y., Lahaye, L., He, Z., Zhang, J., Yang, C., Piao, X., 2020. Micro-encapsulated essential oils and organic acids combination improves intestinal barrier function, inflammatory responses and microbiota of weaned piglets challenged with enterotoxigenic *Escherichia coli* F4 (K88⁺). *Anim. Nutr.* 6, 269-277. <https://doi.org/10.1016/j.aninu.2020.04.004>.
- Yang, C., Zhang, L., Cao, G., Feng, J., Yue, M., Xu, Y., Dai, B., Han, Q., Guo, X., 2019. Effects of dietary supplementation with essential oils and organic acids on the growth performance, immune system, fecal volatile fatty acids, and microflora community in weaned piglets. *J. Anim. Sci.* 97, 133-143. <https://doi.org/10.1093/jas/sky426>.
- Yoon, B. K., Jackman, J. A., Valle-González, E. R., & Cho, N. J., 2018. Antibacterial free fatty acids and monoglycerides: Biological activities, experimental testing, and therapeutic applications. *Int. J. Mol. Sci.* 19, 1114. <https://doi.org/10.3390/ijms19041114>.
- Yu, D., Zhu, W., Hang, S., 2019. Effects of low-protein diet on the intestinal morphology, digestive enzyme activity, blood urea nitrogen, and gut microbiota and metabolites in weaned piglets. *Arch. Anim. Nutr.* 73, 287-305. <https://doi.org/10.1080/1745039X.2019.1614849>.

- Yue, L.Y., Qiao, S.Y., 2008. Effects of low-protein diets supplemented with crystalline amino acids on performance and intestinal development in piglets over the first 2 weeks after weaning. *Livest. Sci.* 115, 144-152. <https://doi.org/10.1016/j.livsci.2007.06.018>.

CAPÍTULO 4. “Efecto de la sustitución de óxido de zinc por una mezcla de ácidos orgánicos, mono, di y triglicéridos de ácidos orgánicos de cadena corta y media y aceites esenciales, sola o en combinación con ácidos húmicos, sobre la productividad y salud de lechones recién destetados”.

4.1. Introducción.

Ya se ha comentado anteriormente la importancia que tienen todos los aspectos, tanto nutricionales como de manejo e higiene en el proceso de destete del lechón. Cabe destacar que no solo es importante que el lechón empiece a ingerir pienso lo antes posible, sino que hay que intentar disminuir todo lo que se pueda el estrés que el lechón pueda sufrir durante este proceso. Teniendo en cuenta todos estos aspectos, el objetivo principal es disminuir la incidencia de PWD las primeras posteriores al destete. Como se ha explicado en el capítulo 1 de la presente tesis doctoral, el uso del óxido de zinc a dosis farmacológicas y el uso de antibióticos como promotores del crecimiento está prohibido en la Unión Europea (Comisión Europea, 2017), por tanto, es necesario la búsqueda de alternativas.

Una de las alternativas a nivel nutricional es el uso de ácidos húmicos (AH). Se trata de una materia prima resultante de la descomposición de la materia orgánica, en particular, de las plantas. Inhibe el crecimiento de bacterias y hongos disminuyendo los niveles de micotoxinas en el alimento (Islam et al., 2005). Además, tienen un efecto beneficioso sobre el intestino de los animales lo que sirve como prevención de enfermedades de gran importancia como la diarrea (Islam et al., 2005). Los AH previenen de una excesiva pérdida de agua en el intestino, lo cual es importante en el tratamiento de la diarrea (Dell'Anno et al., 2020) además, mejora el rendimiento animal y modula el metabolismo de los lípidos al aumentar el nivel de colesterol HDL en el suero sanguíneo (Trckova et al., 2018). Además, ayuda al transporte de iones a través de las membranas, protegiendo la mucosa intestinal, las actividades enzimáticas y facilitando la digestión y absorción de nutrientes, particularmente para proteínas y minerales (Trckova et al., 2017; Trckova et al., 2018). Varios estudios han demostrado los AH añadidos en la dieta (2-10 g/100 g de dieta) mejoran el crecimiento, rendimiento y calidad de la carne, reduciendo también las emisiones de amoníaco en los purines (Ji et al., 2006; Wang et al., 2008; Aeschbacher et al., 2012; Kim et al., 2019).

Otra estrategia nutricional es el uso de aditivos. Dentro de esta estrategia cobra gran importancia los ácidos, algunos forman parte del grupo de los conservantes (Registro de aditivos para piensos de la Unión Europea de acuerdo con el reglamento 1831/2003). Dentro de los ácidos, los ácidos orgánicos (AO) pueden ser una alternativa potencial al uso de óxido de zinc en dosis farmacológicas y al de antibióticos como promotores de crecimiento.

Como se ha comentado en el capítulo 3, varios estudios han demostrado la eficacia de los AO para mejorar la salud intestinal de los lechones las primeras semanas posteriores al destete (Skřivanová et al., 2009; Yoon et al., 2018).

Los AO de cadenas más cortas como el fórmico, acético, propiónico o butírico tienen gran importancia. Estos ácidos son producidos en el intestino grueso de los mamíferos por la fermentación de carbohidratos no digeridos (Morel et al., 2019). El ácido butírico es la principal fuente de energía para los colonocitos, donde se utiliza hasta en un 90%, tiene un efecto positivo en el desarrollo del epitelio intestinal. El ácido acético es transportado desde el colon hasta el hígado donde se utiliza hasta en un 70%, es la fuente de energía para los hepatocitos.

Según Mroczek et al. (2005) los AO pueden reducir el contenido de microorganismos patógenos en el pienso y mejorar la productividad al reducir la PWD, ya que reducen el pH de la dieta, manteniendo el equilibrio de la microflora (Torrallardona et al., 2007; Diao et al., 2014; Suiyanrayna y Ramana, 2015). Los MG forman micelas en concentraciones más bajas que los ácidos orgánicos, lo que sugiere que su acción puede ser más potente (Phillips et al., 2021). El uso de estos compuestos en alimentación animal tiene algunos aspectos negativos como el olor desagradable, la insolubilidad en agua y en algunos casos problemas en la palatabilidad del pienso. Por otro lado, la actividad bactericida de los AO depende del pH (Valle et al., 2018; Jackman et al., 2020;) siendo más eficaces a pH inferiores a su pKa, por ser mayor la fracción no disociada, por lo que pierden efectividad en pH neutros posteriores al estómago de los animales. La acción de los MG es independiente del pH ya que la molécula es estable a diferentes pH por no disociarse (Gabert y Sauer, 1994). Por esta razón, debido a los diferentes valores de pH a lo largo del GIT, la actividad de los MG es más estable que la de los AO.

Otra alternativa es el de aceites esenciales (AE), aditivos que forman parte del grupo de aromatizantes (Registro de aditivos para piensos de la Unión Europea de acuerdo con el reglamento 1831/2003). Los AE compuestos bioactivos naturales derivados de plantas o sus análogos sintéticos que en determinadas circunstancias han demostrado reemplazar potencialmente el uso de determinados antibióticos (Valenzuela-Grijalva et al., 2017). Varios estudios han demostrado que los AE pueden dañar la estructura celular del patógeno alterando los lipopolisacáridos de la membrana celular (Vaara, 1992; Sikkema et al., 1994). Omonijo et al. (2018) explicaron que los AE modifican la estructura y permeabilidad de la célula bacteriana, lo que aumenta la posibilidad de exposición a los AO. En el estudio de

Yang et al., (2019) reportan que la adición de diferentes tipos de AE fue eficaz para mejorar el rendimiento y el sistema inmunológico, mejorar la salud intestinal y disminuir la incidencia de PWD.

Con los estudios realizados hasta el momento, se puede afirmar que no hay un único compuesto que sea capaz de reducir el uso de antibióticos en su totalidad, por tanto, varios estudios demostraron que la combinación entre los AE y los AO puede ser una alternativa potencial al uso de los antibióticos las primeras semanas posdestete (Walia et al., 2017; Ma et al., 2022). En los estudios de Xu et al., (2017, 2020), demostraron que dicha combinación tiene efectos interactivos sobre la salud intestinal de los lechones, ya que supone una mejora de la barrera intestinal y un aumento de la microflora beneficiosa.

En el capítulo 3 hemos observado que hay un efecto de los AO, MG y AE sobre la productividad de los lechones y en esta prueba se ha querido utilizar dicha mezcla en combinación con ácidos húmicos para ver cuál era el efecto de la adición de leonardita.

El objetivo de este estudio ha sido analizar el efecto de la sustitución de óxido de zinc a dosis farmacológicas por una mezcla de AO, MG y AE sola o en combinación con ácidos húmicos, sobre la productividad y salud de los lechones recién destetados.

4.2. Material y métodos.

4.2.1. Animales experimentales

Se utilizaron un total de 480 lechones cruzados (Duroc x Landrace*Large White) procedentes de la granja El Carrascal (Villagonzalo de Coca, Segovia), mitad machos castrados y mitad hembras. Los lechones se destetaron con 28 días de vida y un peso medio de $5,8 \pm 0,76$ kg, y se distribuyeron en cuadras de 30 lechones cada una al azar de acuerdo con el sexo y el peso vivo.

4.2.2. Diseño experimental

El diseño experimental (Tabla 4.2.2.1) constó de 4 tratamientos todos basados en una dieta control (C): Suplementada con dosis farmacológicas de óxido de zinc (ZnO); Suplementada con 6,5kg/t de la mezcla A (A); Suplementada con 6,5kg/t de la mezcla A y 3kg/t de Leonardita (A_LEO3); Suplementada con 6,5 kg/t de la mezcla A y 6kg/t de Leonardita (A_LEO6). La unidad experimental fue una réplica de 30 lechones del mismo sexo alojados conjuntamente y hubo 4 réplicas por tratamiento.

Tabla 4.2.2.1. *Diseño experimental.*

Tratamiento	Descripción	Dosis		
		ZnO	A ¹	LEO ²
ZnO	Suplementado con dosis farmacológicas de óxido de zinc.	3,1 kg/t		
A	Suplementado con una mezcla de AO, MG y AE (A).		6,5 kg/t	
A_LEO3	Suplementado con una mezcla de AO, MG y AE (A) y LEO.		6,5 kg/t	3 kg/t
A_LEO6	Suplementado con una mezcla de AO, MG y AE (A) y LEO.		6,5 kg/t	6 kg/t

¹A: Mezcla de ácidos orgánicos, mono, di y triglicéridos de ácidos orgánicos y aceites esenciales.

²LEO: Leonardita.

4.2.3. Dietas experimentales.

Los animales comieron una dieta prestarter común² (SETNA NUTRICIÓN) durante la primera semana post destete, momento en el que fueron asignados al azar a cada una de las cuatro dietas experimentales. Las dietas experimentales fueron formuladas para satisfacer

²Trigo extrusionado, haba de soja extrusionada, arroz extrusionado, trigo, cebada, suero dulce, dextrosa, plasma porcino, harina de pescado, aceite de soja, permeato de lactosa, fosfato monocálcico, concentrado de soja, ácido cítrico, carbonato cálcico, L-Lisina, L-Treonina, DL Metionina, L valina, triptófano, ZnO, corrector. Aportaba 2.640 kcal/kg de energía neta, 18,4% de proteína bruta, 1,3% de lisina digestible, 7,15 de extracto etéreo, 5,5% de lactosa, 0,69% de Ca, 0,40% de fósforo digestible.

las necesidades de los animales de acuerdo con FEDNA³ para lechones a estas edades. La composición de las dietas se muestra en la Tabla 4.2.3.1. y su valor estimado en la Tabla 4.2.3.2. Las dietas fueron granuladas a 70°C (a la salida de matriz aproximadamente) con un diámetro de 3,5mm, y fueron ofrecidas hasta los 72d de vida *ad libitum*.

Tabla 4.2.3.1. Dietas experimentales (ZnO: Control con dosis farmacológicas de óxido de zinc; A: Control con una mezcla de ácidos orgánicos, mono, di y triglicéridos de ácidos orgánicos y aceites esenciales.; A_LEO3: Control con una mezcla de ácidos orgánicos, mono, di y triglicéridos de ácidos orgánicos y aceites esenciales. y 3kg/t de leonardita; A_LEO6: Control con una mezcla de ácidos orgánicos, mono, di y triglicéridos de ácidos orgánicos y aceites esenciales. y 6kg/t de leonardita)

Ingredientes, %	ZnO	A	A_LEO3	A_LEO6
Cebada	37,75	37,42	37,11	36,83
Maíz	4,92	4,90	4,90	4,90
Harinillas de maíz	8,52	8,51	8,50	8,51
Trigo	19,72	19,71	19,71	19,71
Harina de soja 47 % PB	18,92	18,91	18,91	19,91
Glicerina	1,00	1,00	1,00	1,00
Cascaras de guisante	0,80	0,80	0,80	0,80
Grasa animal	3,52	3,50	3,50	3,50
Fosfato monocálcico	1,28	1,30	1,30	1,30
Carbonato cálcico	0,80	0,80	0,80	0,80
Sal	0,40	0,40	0,40	0,40
Corrector vitamínico mineral ⁴	0,30	0,30	0,30	0,30
Cloruro de colina líquida 75 %	0,03	0,03	0,03	0,03
Bht antioxidante	0,01	0,01	0,01	0,01
Lisina	0,63	0,63	0,65	0,63
Metionina hidroxianáloga 88 %	0,24	0,24	0,24	0,24
Treonina	0,26	0,26	0,26	0,26
Premezcla de óxido de zinc ⁵	0,30	-	-	-
Triptófano 10%	0,56	0,56	0,56	0,56
Mezcla de ácidos orgánicos, mono, di y triglicéridos de ácidos orgánicos y aceites esenciales (A) ⁶	-	0,65	0,65	0,65
Leonardita	-	-	0,30	0,60

⁴Aportado por kg de dieta: Vitamina A (3a672a, acetato de retinol): 10.000 IU; Vitamina D3 (3a671, colecalciferol): 2.000 IU; Vitamina E (3a700, alfatocoferol): 100 IU; Vitamina B12(cianocobalamina): 0,033 mg; Vitamina B6 (3a831, clorhidrato de piridoxina.): 4 mg; Vitamina K3(3a710, bisulfato de sodio menadiona): 5 mg; Vitamina B1 (3a821, mononitrato de tiamina): 1,5 mg; Vitamina B2 (3a825i, riboflavina): 5 mg; Niacina (3a314): 25 mg; Pantotenato cálcico: 20 mg; Ácido fólico (3a316): 1 mg; Biotina (3a880): 0,1 mg; Cloruro de colina (3a890): 100 mg; Betaína (3a925, clorhidrato de betaína): 0,05 mg; Manganeso (3b502, óxido de manganeso (II)): 100 mg; Selenio (3b801, selenito de sodio): 0,2 mg; Zinc (3b603, óxido de zinc): 115 mg; Cobre (3b405, sulfato de cobre (II) pentahidratado): 90 mg; Iodo (3b201, yoduro potásico): 2 mg ; Hierro (3b103, sulfato de hierro (II) monohidratado): 0,1 mg.

⁵Premezcla medicamentosa de óxido de zinc: óxido de zinc calier (96 g de óxido de zinc/kg

⁶A: Mezcla de AO, MG y AE suministrada por 3F Feed&Food.

Tabla 4.2.3.2. Valor estimado de las dietas experimentales. (ZnO: Control con dosis farmacológicas de óxido de zinc; A: Control con una mezcla de ácidos orgánicos, mono, di y triglicéridos de ácidos orgánicos y aceites esenciales.; A_LEO3: Control con una mezcla de ácidos orgánicos, mono, di y triglicéridos de ácidos orgánicos y aceites esenciales. y 3kg/t de leonardita; A_LEO6: Control con una mezcla de ácidos orgánicos, mono, di y triglicéridos de ácidos orgánicos y aceites esenciales. y 6kg/t de leonardita).

Nutriente, %	ZnO	A	A_LEO3	A_LEO6
Humedad	10,68	10,64	10,61	10,59
Materia seca	89,32	89,36	89,39	89,31
Energía neta, kcal/kg	2422	2422	2415	2408
Proteína bruta	18,02	17,97	17,95	17,89
Lisina	1,30	1,30	1,31	1,29
Lisina SID ⁷	1,18	1,18	1,20	1,18
Metionina	0,47	0,47	0,47	0,47
Metionina SID	0,44	0,44	0,44	0,44
Metionina+Cisteína	0,79	0,78	0,78	0,78
Metionina+Cisteína SID	0,71	0,71	0,71	0,71
Arginina	1,04	1,03	1,03	1,03
Triptófano	0,26	0,26	0,26	0,26
Triptófano SID	0,24	0,24	0,24	0,24
Treonina	0,87	0,86	0,86	0,86
Treonina SID	0,77	0,77	0,77	0,76
Valina	0,82	0,81	0,81	0,81
Valina SID	0,70	0,70	0,70	0,69
Isoleucina	0,70	0,70	0,70	0,69
Isoleucina SID	0,60	0,60	0,60	0,59
Arginina SID	0,94	0,94	0,94	0,94
Grasa	5,48	5,45	5,45	5,44
Oleico	1,78	1,77	1,77	1,77
Linoleico	1,14	1,13	1,13	1,13
Palmítico	1,16	1,15	1,15	1,15
Esteárico	0,63	0,63	0,63	0,63
Saturados/Insaturados	0,26	0,25	0,25	0,25
Fibra bruta	3,63	3,62	3,60	3,60
Fibra ácido detergente	4,93	4,91	4,88	4,87
Fibra neutro detergente	12,23	12,17	12,12	12,70
Almidón	39,92	38,74	38,58	38,43
Cenizas	6,01	5,74	5,73	5,72
Calcio	0,74	0,75	0,75	0,75
Fósforo total	0,70	0,70	0,70	0,70
Fósforo fítico	0,25	0,25	0,25	0,25
Fósforo SID.	0,41	0,42	0,42	0,41
Calcio/Fósforo	1,06	1,06	1,06	1,06
Sodio	0,19	0,19	0,19	0,19
Potasio	0,76	0,76	0,76	0,76

⁷SID: digestible estandarizada

²Basado en valores de ingredientes para nutrición animal FEDNA, (2010).

4.2.4. Análisis.

La composición de las dietas fue analizada para humedad por secado en estufa (930.15), cenizas por incineración (942.05), proteína por el método Kjeldahl (984.13), el extracto etéreo por análisis de grasa Soxhlet (920.39), como se describe en el AOAC (International, 2012, 19th ed.), el almidón por el método polarimétrico y la fibra bruta por el método Weende.

Los resultados analíticos de las dietas se muestran en la tabla 4.2.4.1.

Tabla 4.2.4.1. Análisis nutricional de las dietas experimentales (medias de dos análisis). (ZnO: Control con dosis farmacológicas de óxido de zinc; A: Control con una mezcla de ácidos orgánicos, mono, di y triglicéridos de ácidos orgánicos y aceites esenciales.; A_LEO3: Control con una mezcla de ácidos orgánicos, mono, di y triglicéridos de ácidos orgánicos y aceites esenciales. y 3kg/t de leonardita; A_LEO6: Control con una mezcla de ácidos orgánicos, mono, di y triglicéridos de ácidos orgánicos y aceites esenciales. y 6kg/t de leonardita)

Análisis, %	ZnO	A	A_LEO3	A_LEO6
Materia seca	88,6	88,7	89,0	88,5
Proteína bruta	17,8	18,2	17,8	17,9
Fibra bruta	4,7	4,7	5,3	6,2
Cenizas	5,1	5,4	5,2	5,2
Almidón	38,4	37,3	36,7	35,0
Extracto etéreo	5,1	5,0	5,1	4,8

4.2.5. Instalaciones experimentales.

Las instalaciones experimentales estuvieron situadas en Navas de Arévalo, Ávila. Los animales experimentales se alojaron al azar en 16 réplicas. Cada cuadra medía 7,4m² útiles (densidad: 0,25 m²/cerdo hasta 20 kg). La nave poseía un sistema de iluminación natural (ventanas a ambos lados) y artificial no programable. Las cuadras tenían suelo de hormigón con rejilla y el sistema de ventilación se regulaba mediante ventiladores conectados a un sensor de temperatura. La temperatura se ajustó semanalmente de acuerdo con la edad de los animales. Las dietas y el agua se ofrecieron *ad libitum* mediante un comedero de hormigón con tolva (93x33cm²) de 4 bocas (14cm de diámetro), y un bebedero de cazoleta situados en el interior de cada cuadra.

4.2.6. Parámetros analizados y cálculo de parámetros.

Se tomó el peso de los animales al inicio de la prueba para equilibrar los tratamientos, al cambio de dieta de prestarter a starter, 8 días post destete (36d de vida), a los 23d post destete (51d de vida) y a los 37d post destete (65d de vida). Se anotaron las bajas y los animales retirados con su causa, su fecha y su peso. Con los incrementos de peso por réplica se calculó la ganancia media diaria. El consumo de pienso por réplica se controló en los controles de peso efectuados, y con ello se calculó el consumo de pienso.

medio diario por réplica. El índice de transformación por réplica se calculó como el cociente entre el consumo medio y la ganancia de peso medio por réplica, en g/g.

4.2.7. Análisis estadístico.

Los datos fueron analizados mediante un análisis de varianza por el procedimiento lineal. El modelo incluyó el peso inicial como covariable, y el tratamiento experimental. Los datos se expresan por medias corregidas por mínimos cuadrados, y se realizó una comparación de medias corregidas por Bonferroni.

$$Y_{ij} = \text{Peso}_{0j} + \text{Tratamiento}_i + \varepsilon_{ij}$$

Los datos de mortalidad se analizaron como variables no continuas mediante una prueba χ^2 y se expresan como el porcentaje de animales fallecidos o retirados de prueba por tratamiento.

4.3. Resultados.

4.3.1. Productividad.

Los lechones se destetaron con 28 días de vida y un peso medio de $6,89 \pm 0,85$ kg, con medias de 6,79, 6,83, 7,07 y 6,90 kg para ZnO, A, A_LEO3 y A_LEO6, respectivamente, ($P < 0,01$). Tras comer el pienso prestarter común, los lechones alcanzaron un peso de $8,73 \pm 1,04$ kg con medias de 8,9, 8,6, 8,8 y 8,7 kg para ZnO, A, A_LEO3 y A_LEO6, respectivamente, ($P > 0,05$).

El efecto del tratamiento sobre el peso se muestra en la Tabla 4.3.1. Los animales suplementados con leonardita presentaron problemas digestivos durante las primeras semanas, y tuvieron que ser medicados para tratar la diarrea. A los 51 d de vida, los lechones que consumieron las dietas con óxido de zinc y suplementada con A y 6 kg de leonardita presentaron mayores pesos que los que consumieron dietas suplementadas con A, presentando la dieta suplementada con A y 3 kg de leonardita valores intermedios (14,45, 13,16, 13,90 y 14,10 kg para ZnO, A, A_LEO3 y A_LEO6, respectivamente, $P < 0,05$). A los 65d de vida, los animales que consumieron dietas suplementadas con A y 3 kg de leonardita presentan mayor peso que los animales que consumieron dietas suplementadas con A, (21,89, 20,94, 22,24 y 21,23 kg para ZnO, A, A_LEO3 y A_LEO6, respectivamente, $P < 0,05$). Por último, a los 75d de vida, no existen diferencias significativas en el peso vivo entre los cuatro tratamientos, aunque hay una tendencia clara hacia una mejora del peso en los animales suplementados con A_LEO3 (28,14, 27,24, 28,69 y 27,81 kg para ZnO, A, A_LEO3 y A_LEO6, respectivamente, $P = 0,066$).

Tabla 4.3.1.1. Efecto del tratamiento sobre el peso a los 51, 65 y 75d de vida. (ZnO: Control con dosis farmacológicas de óxido de zinc; A: Control con una mezcla de ácidos orgánicos, mono, di y triglicéridos de ácidos orgánicos y aceites esenciales.; A_LEO3: Control con una mezcla de ácidos orgánicos, mono, di y triglicéridos de ácidos orgánicos y aceites esenciales. y 3kg/t de leonardita; A_LEO6: Control con una mezcla de ácidos orgánicos, mono, di y triglicéridos de ácidos orgánicos y aceites esenciales. y 6kg/t de leonardita).

Tratamiento	PESO (kg) 51d	PESO (kg) 65d	PESO (kg) 72d
ZnO	14,45 ^a	21,89 ^{ab}	28,14
A	13,16 ^b	20,94 ^b	27,24
A_LEO3	13,90 ^{ab}	22,24 ^a	28,69
A_LEO6	14,10 ^a	21,23 ^{ab}	27,81
EEM ¹ (n=4)	0,202	0,251	0,338
Peso 36d	<0,001	<0,001	<0,001
Tratamiento	0,006	0,014	0,066

*Medias con distinto superíndice son distintos.

¹EEM. Error Estándar de la media.

El efecto del tratamiento sobre la productividad entre 36 y 51 d de vida se muestra en la Tabla 4.3.1.2. Los lechones que fueron alimentados con óxido de zinc y suplementados con A y 6 kg de leonardita tuvieron mayor crecimiento que los que comieron la dieta suplementada con A, existiendo diferencias significativas (382, 296, 344 y 358 g/d para ZnO, A, A_LEO3 y A_LEO6, respectivamente, $P<0,05$). En el consumo de pienso, no se observaron diferencias significativas entre tratamientos (524, 474, 504 y 503g/d para ZnO, A, A_LEO3 y A_LEO6, respectivamente, $P>0,05$). Los lechones que consumieron dietas con óxido de zinc y suplementadas con A y 3 kg de leonardita mostraron mejor índice de transformación (IT) que los lechones que consumieron dietas suplementadas con A existiendo diferencias significativas entre tratamientos (1,37, 1,61, 1,47 y 1,40 g/g para ZnO, A, A_LEO3 y A_LEO6 respectivamente, $P<0,05$).

Tabla 4.3.1.2. Efecto del tratamiento sobre el crecimiento, el consumo de pienso e índice de transformación entre 36 y 51d de vida. (ZnO: Control con dosis farmacológicas de óxido de zinc; A: Control con una mezcla de ácidos orgánicos, mono, di y triglicéridos de ácidos orgánicos y aceites esenciales.; A_LEO3: Control con una mezcla de ácidos orgánicos, mono, di y triglicéridos de ácidos orgánicos y aceites esenciales. y 3kg/t de leonardita; A_LEO6: Control con una mezcla de ácidos orgánicos, mono, di y triglicéridos de ácidos orgánicos y aceites esenciales. y 6kg/t de leonardita).

Tratamiento	Crecimiento (g/d)	Consumo de pienso (g/d)	Índice transformación (g/g)
ZnO	382 ^a	524	1,37 ^a
A	296 ^b	474	1,61 ^b
A_LEO3	344 ^{ab}	504	1,47 ^{ab}
A_LEO6	358 ^a	503	1,40 ^a
EEM ¹ (n=4)	13	12	0,044
Peso 36d	0,020	<0,001	0,126
Tratamiento	0,006	0,075	0,016

*Medias con distinto superíndice son distintos.

¹EEM. Error Estándar de la media.

El efecto del tratamiento sobre la productividad entre 51 y 65d de vida se muestra en la Tabla 4.3.1.3. Los animales que comieron dietas suplementadas con A y 3 kg de leonardita tuvieron un mayor crecimiento que los animales que consumieron dieta suplementadas con A y 6 kg de leonardita, existiendo diferencias significativas entre los tratamientos (531, 555, 596 y 510g/d para ZnO, A, A_LEO3 y A_LEO6, respectivamente, $P<0,05$). En cuanto al efecto del tratamiento en el consumo de pienso, no existen diferencias significativas entre los tratamientos (784, 779, 807 y 743 g/d para ZnO, A, A_LEO3 y A_LEO6, respectivamente, $P>0,05$).

Por último, no hubo diferencias significativas del efecto del tratamiento en el índice de transformación, aunque hay una tendencia hacia una significación en los lechones suplementados con A y A_LEO6 (1,47, 1,41, 1,36 y 1,46g/g para ZnO, A, A_LEO3 y A_LEO6, respectivamente, P=0,077).

Tabla 4.3.1.3. Efecto del tratamiento sobre el crecimiento, el consumo de pienso e índice de transformación entre 51 y 65d de vida. (ZnO: Control con dosis farmacológicas de óxido de zinc; A: Control con una mezcla de ácidos orgánicos, mono, di y triglicéridos de ácidos orgánicos y aceites esenciales.; A_LEO3: Control con una mezcla de ácidos orgánicos, mono, di y triglicéridos de ácidos orgánicos y aceites esenciales. y 3kg/t de leonardita; A_LEO6: Control con una mezcla de ácidos orgánicos, mono, di y triglicéridos de ácidos orgánicos y aceites esenciales. y 6kg/t de leonardita).

Tratamiento	Crecimiento (g/d)	Consumo de pienso (g/d)	Índice transformación (g/g)
ZnO	531 ^{ab}	784	1,47
A	555 ^{ab}	779	1,41
A_LEO3	596 ^a	807	1,36
A_LEO6	510 ^b	743	1,46
EEM ¹ (n=4)	17	19	0,030
Peso 36d	0,001	<0,001	0,640
Tratamiento	0,023	0,198	0,077

*Medias con distinto superíndice son distintos.

¹EEM. Error Estándar de la media.

El efecto del tratamiento sobre la productividad entre 65 y 75d de vida se muestra en la Tabla 4.3.1.4. El efecto del tratamiento sobre el crecimiento no presenta diferencias significativas entre los 4 tratamientos (626, 630, 645 y 658g/d para ZnO, A, A_LEO3 y A_LEO6, respectivamente, P>0,05). El efecto del tratamiento sobre el consumo de pienso tampoco presenta diferencias significativas entre los 4 tratamientos (1,02, 1,01, 1,10 y 1,05 g/d para ZnO, A, A_LEO3 y A_LEO6, respectivamente, P>0,05). Asimismo, el efecto del tratamiento en el índice de transformación tampoco presenta diferencias significativas entre tratamientos (1,63, 1,60, 1,71 y 1,59 g/g para ZnO, A, A_LEO3 y A_LEO6, respectivamente, P>0,05).

Tabla 4.3.1.4. Efecto del tratamiento sobre el crecimiento, el consumo de pienso e índice de transformación entre 65 y 75d de vida. (ZnO: Control con dosis farmacológicas de óxido de zinc; A: Control con una mezcla de ácidos orgánicos, mono, di y triglicéridos de ácidos orgánicos y aceites esenciales.; A_LEO3: Control con una mezcla de ácidos orgánicos, mono, di y triglicéridos de ácidos orgánicos y aceites esenciales. y 3kg/t de leonardita; A_LEO6: Control con una mezcla de ácidos orgánicos, mono, di y triglicéridos de ácidos orgánicos y aceites esenciales. y 6kg/t de leonardita).

Tratamiento	Crecimiento (g/d)	Consumo de pienso (g/d)	Índice transformación (g/g)
ZnO	626	1021	1,632
A	630	1007	1,596
A_LEO3	645	1103	1,714
A_LEO6	658	1045	1,590
EEM ¹ (n=4)	18	24	0,038
Peso 36d	0,076	0,001	0,089
Tratamiento	0,590	0,069	0,141

*Medias con distinto superíndice son distintos.

¹EEM. Error Estándar de la media.

El efecto del tratamiento sobre la productividad entre 36 y 75d de vida se muestra en la Tabla 4.3.1.5. Los animales que comieron dietas suplementadas con A y 3 kg de leonardita tendieron a crecer más que los que comieron la dieta suplementada con A, no existen diferencias significativas entre tratamientos, pero hay una tendencia hacia la significación (498, 475, 512 y 489 g/d para ZnO, A, A_LEO3 y A_LEO6, respectivamente, P=0,066). El efecto del tratamiento sobre el consumo de pienso en dicho periodo no presenta diferencias significativas entre tratamientos (744, 720, 766 y 728 g/d para ZnO, A, A_LEO3 y A_LEO6, respectivamente, P>0,05). Por último, el efecto del tratamiento sobre el índice de transformación no presenta diferencias significativas entre tratamientos (1,50, 1,52, 1,50 y 1,49 g/g para ZnO, A, A_LEO3 y A_LEO6, respectivamente, P>0,05).

Tabla 4.3.1.5. Efecto del tratamiento sobre el crecimiento, el consumo de pienso e índice de transformación entre 36 y 75d de vida. (ZnO: Control con dosis farmacológicas de óxido de zinc; A: Control con una mezcla de ácidos orgánicos, mono, di y triglicéridos de ácidos orgánicos y aceites esenciales.; A_LEO3: Control con una mezcla de ácidos orgánicos, mono, di y triglicéridos de ácidos orgánicos y aceites esenciales. y 3kg/t de leonardita; A_LEO6: Control con una mezcla de ácidos orgánicos, mono, di y triglicéridos de ácidos orgánicos y aceites esenciales. y 6kg/t de leonardita).

Tratamiento	Crecimiento (g/d)	Consumo de pienso (g/d)	Índice transformación (g/g)
ZnO	498 ^{ab}	744	1,50
A	475 ^b	720	1,52
A_LEO3	512 ^a	766	1,50
A_LEO6	489 ^{ab}	728	1,49
EEM ¹ (n=4)	9	15	0,012
Peso 36d	<0,001	<0,001	0,027
Tratamiento	0,066	0,197	0,363

*Medias con distinto superíndice son distintos.

¹EEM. Error Estándar de la media.

4.3.2. Mortalidad y retirados de la prueba.

Antes del inicio de las dietas experimentales, entre 28 y 36d de vida, hubo una baja perteneciente a ZnO, que no se ha tenido en cuenta para el análisis. Asimismo, a los 8 y 9 días de ensayo se trató a todos los animales con (Forcyl, 1ml, 1d, Marbofloxacino).

No hubo un efecto del tratamiento sobre el total de animales que causaron baja por una u otra razón, (3,3, 0,8, 0,0, 1,7% para ZnO, A, A_LEO3 y A_LEO6; P>0,05).

Tabla 4.3.2.1. Efecto del tratamiento sobre la incidencia de bajas y eliminados de la prueba entre 36 y 75d de vida. ((ZnO: Control con dosis farmacológicas de óxido de zinc; A: Control con una mezcla de ácidos orgánicos, mono, di y triglicéridos de ácidos orgánicos y aceites esenciales.; A_LEO3: Control con una mezcla de ácidos orgánicos, mono, di y triglicéridos de ácidos orgánicos y aceites esenciales. y 3kg/t de leonardita; A_LEO6: Control con una mezcla de ácidos orgánicos, mono, di y triglicéridos de ácidos orgánicos y aceites esenciales. y 6kg/t de leonardita).

Tratamiento	Mortalidad %
ZnO	3,3
A	0,8
A_LEO3	0,0
A_LEO6	1,7
P	0,166

*Medias con distinto superíndice son distintos.

4.4. Discusión.

Los lechones alimentados con óxido de zinc mostraron un crecimiento ligeramente mayor, especialmente en los primeros 15 días. Sin embargo, esta diferencia desapareció al final del experimento. Los animales suplementados con ácidos húmicos han presentado problemas digestivos que tuvieron que ser tratados con antibióticos. Una hipótesis que valoramos es que estos problemas hayan venido derivados de la adición de la propia ácidos húmicos, pero no se han encontrado estudios con los que contrastar este problema. Sin embargo, los animales que comieron dietas suplementadas con la mezcla A mostraron un rendimiento aceptable sin la necesidad de ningún antibiótico o óxido de zinc después de 35d. Teniendo en cuenta que la mayor ingesta de alimento con óxido de zinc se produce en la segunda semana después del destete, el uso de esta estrategia podría ser un paso intermedio en la retirada total de óxido de zinc en las dietas para lechones.

En el presente ensayo, la combinación de ácidos orgánicos, mono, di y triglicéridos de ácidos orgánicos y los aceites esenciales sustituyó con éxito el uso del óxido de zinc a dosis farmacológicas. Esto puede ser debido a una mejora en la calidad de la microbiota intestinal, tal y como explican (Suiryanrayna y Ramana, 2015) en su estudio, donde observaron que los ácidos orgánicos en lechones reducen el pH del estómago, formando una barrera antibacteriana, y mejoran la digestibilidad de la proteína. Además, tal y como se ha explicado con anterioridad, los monoglicéridos de ácidos grasos de cadena corta y media tienen una capacidad de regulación de la flora bacteriana que no depende del pH, por lo que actúan sinérgicamente con los ácidos orgánicos, cuya acción pudo reemplazar el efecto del óxido de zinc a dosis farmacológicas

Como se explica en los resultados del estudio, la suplementación con ácidos húmicos a la mezcla A podría haber mejorado el crecimiento y el índice de transformación (en el periodo de 36-51d), pero debido a la necesidad del uso de antibiótico no podemos asegurar que la adición de ácidos húmicos haya tenido un efecto beneficioso sobre la productividad y salud de los lechones, necesitaríamos la realización de más estudios para comprobar dicho efecto. También se ha observado un aumento del peso a los 51 y 65d, que la adición de ácidos húmicos en ese periodo si ha podido tener un efecto positivo en la salud intestinal de los lechones. Estos resultados se podrían contrastar, con el estudio de Trekova et al., (2018) donde explican que los animales que consumieron una dieta suplementada con ácidos húmicos mostraron una mejor digestión y absorción de nutrientes, debido a la protección de la mucosa del intestino. También se contrastan con los resultados obtenidos

en el estudio de Trckova et al., (2017) y Písaříková et al., (2009) donde concluyen que la adición ácidos húmicos puede beneficiar la salud de los lechones en los primeros días post destete.

Se puede concluir que el uso de mezclas de ácidos orgánicos, mono, di y triglicéridos de ácidos orgánicos y los aceites esenciales podría ser una alternativa para el óxido de zinc después de 7 días después del destete; siendo imposible interpretar el efecto de la adición de ácidos húmicos debido a la interacción con el tratamiento antibiótico

4.5. Bibliografía.

- Aeschbacher, M., Graf, C., Schwarzenbach, R., Sander, M., 2012. Antioxidant properties of humic substances. *Environ. Sci. Technol.* 46, 9. <https://doi.org/10.1021/es300039h>.
- Dell'Anno, M., Hejna, M., Sotira, S., Caprarulo, V., Reggi, S., Pilu, R., Miragoli, F., Callegari, M.L., Panseri, S., Rossi, L., 2020. Evaluation of leonardite as a feed additive on lipid metabolism and growth of weaned piglets. *Anim. Feed Sci. Tech.*, 266, 114519. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2020.114519>.
- Diao, H., Zheng, P., Yu, B., He, J., Mao, X.B., Yu, J., Chen, D.W., 2014. Effects of dietary supplementation with benzoic acid on intestinal morphological structure and microflora in weaned piglets. *Livest. Sci.* 167, 249-256. <https://doi.org/10.1016/j.livsci.2014.05.029>.
- European Commission, 2017. Concerning, in the framework of Article 35 of Directive 2001/82(EC of the European Parliament and of the Council, the marketing authorisations for veterinary medicinal products containing “zinc oxide” to be administered orally to food producing species.
- Islam, K.M.S., Schuhmacher, A., Gropp, J.M., 2005. Humic acid substances in animal agriculture. *Pak. J. Nutr.* 4, 126-134. <https://doi.org/10.3923/pjn.2005.126.134>.
- Jackman, J. A., Boyd, R. D., Elrod, C. C., 2020. Medium-chain fatty acids and monoglycerides as feed additives for pig production: Towards gut health improvement and feed pathogen mitigation. *J. Anim. Sci. Biotechnol.* 11, 44. <https://doi.org/10.1186/s40104-020-00446-1>.
- Ji, F., McGlone, J.J., Kim, S.W., 2006. Effects of dietary humic substances on pig growth performance, carcass characteristics, and ammonia emission. *J. Anim. Sci.* 84, 2482-2490. <https://doi.org/10.2527/jas.2005-206>.
- Kim, K., Bae, I., Cho, J., Choi, Y., Ha, J., Choi, J., 2019. Effects of humic acid and blueberry leaf powder supplementation in feeds on the productivity, blood and meat quality of finishing pigs. *Food Sci., Anim Resour* 39, 276-285. <https://doi.org/10.5851/kosfa.2019.e22>.

- Ma, J., Long, S., Wang, J., Gao, J., Piao, X., 2022. Microencapsulated essential oils combined with organic acids improves immune antioxidant capacity and intestinal barrier function as well as modulates the hindgut microbial community in piglets. *J. Anim. Sci. Biotechnol.* 13, 16. <https://doi.org/10.1186/s40104-021-00670-3>.
- Morel, P.C.H., Chidgey, K.L., Jenkinson, C.M.C., Lizarraga, I., Shreurs, N.M., 2019. Effect of benzoic acid, sodium butyrate and sodium butyrate coated with benzoic acid on growth performance, digestibility, intestinal morphology and meat quality in grower-finisher pigs. *Livest. Sci.* 226, 107-113. <https://doi.org/10.1016/j.livsci.2019.06.009>.
- Mroczek, I., Frankiewicz, A., Selwet, M., 2005. The effect of acidifying additives on the microbiological stability of feed mixtures. *J. Anim. Feed Sci.* 14, 385-388. <https://doi.org/10.22358/jafs/70586/2005>.
- Omonijo, F.A., Ni, L., Gong, J., Wang, Q., Lahaye, L., Yang, C., 2018. Essential oils as alternatives to antibiotics in swine production. *Anim. Nutr.* 4, 126-136. <https://doi.org/10.1016/j.aninu.2017.09.001>.
- Phillips, F.C., Rubach, J.K., Poss, M.J., Anam, S., Goyal, S.M., Dee, S.A., 2021. Monoglyceride reduces viability of porcine epidemic diarrhoea virus in feed and prevents disease transmission to post-weaned piglets. *Transbound. Emerg. Dis.* 69, 121-127. <https://doi.org/10.1111/tbed.14353>.
- Písaříková, B., Zralý, Z., Herzig, I., 2009. The effect of dietary sodium humate supplementation on nutrient digestibility in growing pigs. *Acta Vet. Brno.*, 79, 29-353. <https://doi.org/10.2754/avb201079030349>.
- Regulation (EC) N° 1831/2003, of the European Parliament and of the Council of 22 September 2003 on additives for use in animal nutrition. *O. J. E. U.* 268, 29-43.
- Sikkema, J., De Bont, J.A., Poolman, B., 1994. Interactions of cyclic hydrocarbons with biological membranes. *J. Biol. Chem.* 269, 8022-8028. [https://doi.org/10.1016/S0021-9258\(17\)37154-5](https://doi.org/10.1016/S0021-9258(17)37154-5).
- Skřivanová, E., Molatová, Z., Skřivanová, V., Marounek, M., 2009. Inhibitory activity of rabbit milk and medium-chain fatty acids against enteropathogenic *Escherichia coli* O128. *Vet. Microbiol.* 135, 358-362. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2008.09.083>.

- Suiryarayna M., Ramana, J. V., 2015. A review of the effects of dietary organic acids fed to swine. *J. Anim. Sci. Biotechnol.* 6, 45. <https://doi.org/10.1186/s40104-015-0042-z>.
- Torrallardona, D., Badiola, I., Broz, J., 2007. Effects of benzoic acid on performance and ecology of gastrointestinal microbiota in weanling piglets. *Livest. Sci.* 108, 210-213. <https://doi.org/10.1016/j.livsci.2007.01.062>.
- Trckova, M., Lorencova, A., Babak, V., Neca, J., Ciganek, M., 2017. Effects of sodium humate and zinc oxide used in prophylaxis of post-weaning diarrhoea on the health, oxidative stress status and fatty acid profile in weaned piglets. *Veterinárni medicína* 62, 16-28. <https://doi.org/10.17221/70/2016-VETMED>.
- Trckova, M., Lorencova, A., Babak, V., Neca, J., Ciganek, M., 2018. The effect of leonardite and lignite on the health of weaned piglets. *Res. Vet. Sci.* 119, 134-142. <https://doi.org/10.1016/j.rvsc.2018.06.004>.
- Vaara, M., 1992. Agents that increase the permeability of the outer membrane. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* 56, 395-411. <https://doi.org/10.1128/mr.56.3.395-411.1992>.
- Valenzuela-Grijalva, N. V., Pinelli-Saavedra, A., Muhlia-Almazan, A., Domínguez-Díaz, D., González-Ríos, H., 2017. Dietary inclusion effects of phytochemicals as growth promoters in animal production. *J. Anim. Sci. Technol.* 59, 8. <https://doi.org/10.1186/s40781-017-0133-9>.
- Valle-González, E.R., Jackman, J.A., Yoon, B.K., Park, S., Sut, T.N., Cho, N.J., 2018. Characterizing how acidic pH conditions affects the membrane-disruptive activities of lauric acid and glycerol monolaurate. *Langmuir* 34, 13745-13753. <https://doi.org/10.1021/acs.langmuir.8b02536>.
- Walia, K., Argüello, H., Lynch, H., Leonard, F.C., Grant, J., Yearsley, D., Kelly, S., Duffy, G., Gardiner, G.E., Lawlor, P.G., 2017. Effect of strategic administration of an encapsulated blend of formic acid, citric acid, and essential oils on *Salmonella* carriage, seroprevalence, and growth of finishing pigs. *Prev. Vet. Med.* 137, 28-35. <http://dx.doi.org/10.1016/j.prevetmed.2016.12.007>.
- Wang, Q., Chen, Y., Yoo, J., Kim, H., Cho, J., Kim, I., 2008. Effects of supplemental humic substances on growth performance, blood characteristics and meat quality in finishing pigs. *Livest. Sci.* 117, 270-274. <https://doi.org/10.1016/j.livsci.2007.12.024>.

- Xu, Y.T., Liu, L., Long, S.F., Pan, L., Piao, X.S., 2017. Effect of organic acids and essential oils on performance, intestinal health and digestive enzyme activities of weaned pigs. *Anim. Feed Sci. Technol.* 235, 110-119.
- Xu, Y., Lahaye, L., He, Z., Zhang, J., Yang, C., Piao, X., 2020. Micro-encapsulated essential oils and organic acids combination improves intestinal barrier function, inflammatory responses and microbiota of weaned piglets challenged with enterotoxigenic *Escherichia coli* F4 (K88⁺). *Anim. Nutr.* 6, 269-277. <https://doi.org/10.1016/j.aninu.2020.04.004>.
- Yang, C., Zhang, L., Cao, G., Feng, J., Yue, M., Xu, Y., Dai, B., Han, Q., Guo, X., 2019. Effects of dietary supplementation with essential oils and organic acids on the growth performance, immune system, fecal volatile fatty acids and microflora community in weaned piglets. *J. Anim. Sci.* 97, 133-143. <https://doi.org/10.1093/jas/sky426>.
- Yoon, B. K., Jackman, J. A., Valle-González, E. R., & Cho, N. J., 2018. Antibacterial free fatty acids and monoglycerides: Biological activities, experimental testing, and therapeutic applications. *Int. J. Mol. Sci.* 19, 1114. <https://doi.org/10.3390/ijms19041114>.

CAPITULO 5. “Efecto de la sustitución de óxido de zinc por diferentes mezclas de ácidos orgánicos, mono, di y triglicéridos de ácidos orgánicos de cadena corta y media y aceites esenciales, sobre la productividad y la salud de lechones recién destetados”.

5.1. Introducción.

Como se está comentando a lo largo de toda la tesis doctoral, el objetivo principal de la búsqueda de alternativas al uso del óxido de zinc y de los antibióticos es la mejora de la salud intestinal y con ello, la reducción de la proliferación de bacterias patógenas. Como explican Mateos, et al. (2021) para eliminar y reducir el uso del óxido de zinc manteniendo los niveles de productividad, es necesario introducir cambios en todas las áreas de producción porcina incluyendo el diseño de las naves, el manejo y movimiento de animales dentro de la explotación, la higiene de las instalaciones, la reducción de las posibles causas de estrés de los lechones, los programas preventivos incluyendo programas de vacunación y los criterios y diseño de la alimentación (Pluske et al., 2002; Goodband et al., 2006; Pluske et al., 2018).

A fin de mejorar la productividad del lechón y aumentar su capacidad de defensa, es clave asegurar consumos altos de pienso horas después del destete (Le Dividich y Sève, 2000). Por tanto, en ausencia de óxido de zinc y de antibióticos el principal objetivo es reducir el exceso de nutrientes en el intestino grueso, centrándose en aquellos elementos ricos en nitrógeno.

En cuanto a las estrategias nutricionales destaca el uso de aditivos. Dentro de este grupo, cobran gran importancia los ácidos orgánicos (AO), aditivos que forman parte del grupo de los conservantes (Registro de aditivos para piensos de la Unión Europea de acuerdo con el reglamento 1831/2003). Los AO de cadena corta como el fórmico, acético, propiónico o butírico. Estos ácidos son producidos en el intestino grueso de los mamíferos por la fermentación de carbohidratos no digeridos (Morel et al., 2019). El ácido butírico es la principal fuente de energía para los colonocitos, donde se utiliza hasta en un 90%, tiene un efecto positivo en el desarrollo del epitelio intestinal. El ácido acético es transportado desde el colon hasta el hígado donde se utiliza hasta en un 70% como fuente de energía para los hepatocitos. El ácido propiónico es el principal precursor de la glucogénesis en el hígado y es necesario para la formación de energía en el organismo (Hijova and Chmelarova, 2007; Den Besten et al., 2013, Canfora et al., 2015). Su acción antibacteriana consiste en que la forma no disociada del ácido penetra a través de la membrana y llegue hasta el citoplasma. Los ácidos orgánicos de cadena media se definen como ácidos grasos saturados con cadenas de hidrocarburos de 6 a 12 moléculas de carbono y se presentan como ácidos libres o formando mono, di y triglicéridos (MG) (Jackman et al., 2020).

Ambas moléculas tienen una fuerte actividad antibacteriana contra bacterias Gram positivas (Bergsson et al., 2001) o Gram negativas como *Escherichia coli* (Skřivanová et al., 2009), ya sea en forma libre o como MG (Yoon et al., 2018). Como explican Valle-González et al., (2018), el ácido láurico se considera el ácido orgánico más inhibitorio contra bacterias Gram positivas. Su derivado de monoglicérido, la monolaurina (MC12) tiene potentes efectos antibacterianos, demuestra mayor potencia (más efectivo a menor concentración), aunque contra un espectro más reducido de bacterias susceptibles (Kitahara et al., 2004). En el estudio de Thomas et al., (2020) observaron que una mezcla de ácido láctico y MC12 mejoró la ganancia media diaria y el consumo diario de los lechones las primeras semanas después del destete. Además, algunos autores han observado que los lechones se sienten atraídos por el ácido mirístico ya que es uno de los constituyentes de las feromonas maternas en cerdas (Aviles-Rosa et al., 2020). Además, el ácido mirístico tiene un alto poder antibacteriano contra *Escherichia coli* y *Salmonella typhimurium* (Alteri et al., 2009).

Según Mroczek et al. (2005) los AO pueden reducir el contenido de microorganismos patógenos en el pienso y mejorar la productividad al reducir la PWD, ya que reducen el pH de la dieta, manteniendo el equilibrio de la microflora (Torrallardona et al., 2007; Diao et al., 2014; Suiryanrayna y Ramana, 2015). Los MG forman micelas en concentraciones más bajas que los AO, lo que sugiere que su acción puede ser más potente (Phillips et al., 2021). El uso de estos compuestos en alimentación animal tiene algunos aspectos negativos como el olor desagradable, la insolubilidad en agua y en algunos casos problemas en la palatabilidad del pienso. Por otro lado, la actividad bactericida de los AO depende del pH (Valle et al., 2018; Jackman et al., 2020) siendo más eficaces a pH inferiores a su pKa, por ser mayor la fracción disociada, por lo que pierden efectividad en pH neutros posteriores al estómago de los animales (Thacker, 2013). La acción de los MG es independiente del pH ya que la molécula es estable a diferentes pH por no disociarse (Gabert y Sauer, 1994). Por esta razón, debido a los diferentes valores de pH a lo largo del GIT, la actividad de los MG es más estable que la de los AO.

Otra alternativa es el uso de aceites esenciales (AE), aditivos que forman parte del grupo de aromatizantes (Registro de aditivos para piensos de la Unión Europea de acuerdo con el reglamento 1831/2003). Los AE compuestos bioactivos naturales derivados de plantas o sus análogos sintéticos que en determinadas circunstancias han demostrado reemplazar potencialmente el uso de determinados antibióticos (Valenzuela-Grijalva et al., 2017; Xu

et al., 2020). Varios estudios han demostrado que los AE pueden dañar la estructura celular del patógeno alterando los lipopolisacáridos de la membrana celular (Vaara, 1992; Sikkema et al., 1994). Omonijo et al. (2018) explicaron que los AE modifican la estructura y permeabilidad de la célula bacteriana, lo que aumenta la posibilidad de exposición a los AO. En el estudio de Yang et al., (2019) reportan que la adición de diferentes tipos de AE fue eficaz para mejorar el rendimiento y el sistema inmunológico, mejorar la salud intestinal y disminuir la incidencia de PWD.

Con los estudios realizados hasta el momento, se puede afirmar que no hay un único compuesto que sea capaz de reducir el uso de antibióticos en su totalidad, por tanto, varios estudios demostraron que la combinación entre los AE y los AO puede ser una alternativa potencial al uso de los antibióticos las primeras semanas posdestete (Walia et al., 2017; Ma et al., 2022). En los estudios de Xu et al., (2017, 2020), observaron que dicha combinación tiene efectos interactivos sobre la salud intestinal de los lechones, ya que supone una mejora de la barrera intestinal y un aumento de la microflora beneficiosa.

En los capítulos anteriores hemos observado el efecto de los AO, MG y AE sobre la productividad de los lechones y en este ensayo hemos querido añadir monoglicéridos de ácido láurico y mirístico para ver el efecto sobre los lechones los primeros días posteriores al destete.

5.2. Material y métodos.

5.2.1. Animales experimentales

Se utilizaron un total de 480 lechones cruzados (Duroc x Landrace*Large White) procedentes de la granja El Carrascal (Villagonzalo de Coca, Segovia), mitad machos castrados y mitad hembras. Los lechones se destetaron con 28 días de vida y un peso medio de $6,30 \pm 0,10$ kg, y se distribuyeron en cuadras de 30 lechones cada una al azar de acuerdo con el sexo y el peso vivo.

5.2.2. Diseño experimental

El diseño experimental (Tabla 5.2.2.1) constaba de 4 tratamientos todos partían de una dieta control: con dosis farmacológicas de óxido de zinc (ZnO); con 8,5kg/t de una mezcla de AO, MG y AE (A); con 3kg/t de una mezcla de AO y MG de cadena media y larga (MC12) (B); con 8,5kg/t de A y 3kg/t de B (A+B). La unidad experimental fue una réplica de 30 lechones del mismo sexo alojados conjuntamente y hubo 4 réplicas por tratamiento (una de machos pequeños, una de machos grandes, una de hembras pequeñas y una de hembras grades).

Tabla 5.2.2.1. *Diseño experimental.*

Tratamiento	Descripción	Dosis		
		ZnO	A ¹	B ²
ZnO	Dieta control con dosis farmacológicas de óxido de zinc	3,1 kg/t		
A	Dieta control suplementada con A		8,5 kg/t	
B	Dieta control suplementada con B			3 kg/t
A+B	Dieta control suplementada con A y con B		8,5 kg/t	3kg/t

¹A: Mezcla de ácidos orgánicos, mono, di y triglicéridos de ácidos orgánicos de cadena media y aceites esenciales.

²B: Mezcla de ácido láurico y ésteres de ácido láurico y mirístico.

5.2.3. Dietas experimentales.

Los animales comieron una dieta prestarter común³ (SETNA NUTRICIÓN) durante la primera semana post destete, momento en el que fueron asignados al azar a cada una de las

³Trigo extrusionado, haba de soja extrusionada, arroz extrusionado, trigo, cebada, suero dulce, dextrosa, plasma porcino, harina de pescado, aceite de soja, permeato de lactosa, fosfato monocálcico, concentrado de soja, ácido cítrico, carbonato cálcico, L-Lisina, L-Treonina, DL Metionina, L-Valina, Triptófano, ZnO, corrector. Aportaba 2.640 kcal/kg de energía neta, 18,4% de proteína bruta, 1,3% de lisina digestible, 7,15 de extracto etéreo, 5,5% de lactosa, 0,69% de Ca, 0,40% de fósforo digestible.

cuatro dietas experimentales. Las dietas experimentales fueron formuladas para satisfacer las necesidades de los animales de acuerdo con FEDNA⁴ para lechones a estas edades.

La composición de las dietas se muestra en la Tabla 5.2.3.1. y su valor estimado en la Tabla 5.2.3.2. Las dietas fueron granuladas a 70°C (a la salida de matriz aproximadamente) con un diámetro de 3,5mm, y fueron ofrecidas hasta los 72d de vida *ad libitum*.

Tabla 5.3.3.1. Dietas experimentales. (ZnO: Control con óxido de zinc; A: Control con una mezcla de ácidos orgánicos, mono, di y triglicéridos de ácidos orgánicos y aceites esenciales; B: Control con una mezcla de ácido láurico y ésteres de ácido láurico y mirístico; A+B: C con una mezcla de ácidos orgánicos, mono, di y triglicéridos de ácidos orgánicos y aceites esenciales y con una mezcla de mezcla de ácido láurico y ésteres de ácido láurico y mirístico).

Ingredientes, %	ZnO	A	B	A+B
Cebada alta	36,94	37,56	38,08	37,26
Cebada nacional	4,96	5,00	5,00	5,00
Trigo	19,67	19,68	19,69	19,68
Cuartas de trigo	1,04	0,80	0,80	0,80
Harina de galletas	9,75	8,69	8,70	8,69
Harina soja 47% PB	19,11	19,08	19,10	19,08
Grasa animal	3,04	3,10	3,10	3,10
Oleína	0,48	0,50	0,50	0,50
Fosfato monocálcico	1,24	1,25	1,25	1,25
Carbonato cálcico	0,80	0,80	0,80	0,80
Sal	0,24	0,20	0,20	0,20
Corrector vitamínico mineral ⁵	0,30	0,30	0,30	0,30
Cloruro colina (70%)	0,02	0,03	0,03	0,03
Bht antioxidante	0,01	0,01	0,01	0,01
Mezcla de ácidos orgánicos, mono, di y triglicéridos de ácidos orgánicos de cadena media y aceites esenciales (A) ⁶	-	0,85	-	0,85
Mezcla de ácido láurico y ésteres de ácido láurico y mirístico (B) ⁷	-	-	0,30	0,30
Lisina 50% líquida	0,98	0,98	0,98	0,98
Metionina hidroxianáloga 88 %	0,24	0,24	0,24	0,24
Treonina	0,26	0,26	0,26	0,26
Premezcla de óxido de zinc ⁸	0,30	-	-	-
Triptófano 10%	0,56	0,60	0,60	0,60

⁵Aportado por kg de dieta: Vitamina A (3a672a, acetato de retinol): 10.000 IU; Vitamina D3 (3a671, colecalciferol): 2.000 IU; Vitamina E (3a700, alfatocoferol): 100 IU; Vitamina B12 (cianocobalamina): 0,033 mg; Vitamina B6 (3a831, clorhidrato de piridoxina): 4 mg; Vitamina K3(3a710, bisulfato de sodio menadiona): 5 mg; Vitamina B1 (3a821, mononitrato de tiamina): 1,5 mg; Vitamina B2 (3a825i, riboflavina): 5 mg; Niacina (3a314): 25 mg; Pantotenato cálcico: 20 mg; Ácido fólico (3a316): 1 mg; Biotina (3a880): 0,1 mg; Cloruro de colina (3a890): 100 mg; Betaína (3a925, clorhidrato de betaína): 0,05 mg; Manganeso (3b502, óxido de manganeso (II)): 100 mg; Selenio (3b801, selenito de sodio): 0,2 mg; Zinc (3b603, óxido de zinc): 115 mg; Cobre (3b405, sulfato de cobre (II) pentahidratado): 90 mg; Iodo (3b201, yoduro potásico): 2 mg ; Hierro (3b103, sulfato de hierro (II) monohidratado): 0,1 mg.

⁶Mezcla suministrada por 3F Feed & Food.

⁷Mezcla suministrada por 3F Feed & Food.

⁸Premezcla de óxido de zinc (ZINCOTRAX): 96 g de óxido de zinc / kg.

Tabla 5.2.3.2. Valor estimado de las dietas experimentales. (ZnO: Control con óxido de zinc; A: Control con una mezcla de ácidos orgánicos, mono, di y triglicéridos de ácidos orgánicos y aceites esenciales; B: Control con una mezcla de ácido láurico y ésteres de ácido láurico y mirístico; A+B: C con una mezcla de ácidos orgánicos, mono, di y triglicéridos de ácidos orgánicos y aceites esenciales y con una mezcla de ácido láurico y ésteres de ácido láurico y mirístico).

Nutriente, %	ZnO	A	B	A+B
Humedad	10,98	10,92	10,97	10,89
Materia seca	89,02	89,08	89,03	89,11
Energía neta, kcal/kg	2411,3	2414,3	2418,8	2411,9
Proteína bruta	17,80	17,74	17,82	17,71
Lisina	1,29	1,29	1,29	1,28
Lisina SID ⁹	1,18	1,18	1,18	1,18
Metionina	0,47	0,47	0,47	0,47
Metionina SID	0,44	0,44	0,44	0,44
Metionina +Cisteína	0,78	0,78	0,79	0,78
Metionina +Cisteína SID	0,71	0,71	0,712	0,71
Arginina	1,03	1,03	1,03	1,03
Triptófano	0,27	0,27	0,27	0,27
Triptófano SID	0,24	0,24	0,24	0,24
Treonina	0,86	0,86	0,86	0,86
Treonina	0,77	0,77	0,77	0,77
Valina	0,81	0,81	0,81	0,80
Valina SID	0,70	0,70	0,70	0,69
Isoleucina	0,69	0,69	0,70	0,69
Isoleucina SID	0,60	0,60	0,60	0,60
Arginina SID	0,95	0,94	0,95	0,94
Grasa	5,67	5,77	5,78	5,76
Oleico	2,06	2,07	2,07	2,07
Linolénico	1,12	1,11	1,12	1,11
Palmítico	1,25	1,24	1,25	1,24
Esteárico	0,60	0,61	0,61	0,61
Fibra bruta	3,61	3,58	3,61	3,57
Fibra ácido detergente	4,91	4,88	4,91	4,86
Fibra neutro detergente	11,94	11,87	11,96	11,82
Almidón	38,24	38,07	38,34	37,92
Cenizas	6,17	5,78	5,80	5,78

⁴Basado en valores de ingredientes para nutrición animal FEDNA (2010).

⁹SID: digestible estandarizada.

5.2.4. Análisis.

La composición de las dietas fue analizada para humedad por secado en estufa (930.15), cenizas por incineración (942.05), proteína por el método Kjeldahl (984.13), el extracto etéreo por análisis de grasa Soxhlet (920.39), como se describe en el AOAC (International, 2012, 19th ed.), el almidón por el método polarimétrico y la fibra bruta por el método Weende. Los resultados analíticos de las dietas se muestran en la Tabla 5.2.4.1.

Tabla 5.2.4.1. Análisis nutricional de las dietas experimentales (medias de dos análisis). (ZnO: Control con óxido de zinc; A: Control con una mezcla de ácidos orgánicos, mono, di y triglicéridos de ácidos orgánicos y aceites esenciales; B: Control con una mezcla de ácido láurico y ésteres de ácido láurico y mirístico; A+B: Control con una mezcla de ácidos orgánicos, mono, di y triglicéridos de ácidos orgánicos y aceites esenciales y con una mezcla de ácido láurico y ésteres de ácido láurico y mirístico).

Análisis, %	ZnO	A	B	A+B
Almidón	39,3	38,7	39,6	39,0
Cenizas	5,4	5,7	5,6	5,9
Fibra bruta	4,2	4,0	4,3	3,8
Grasa bruta	5,4	5,4	5,7	5,7
Materia seca	89,7	90,0	90,6	90,5
Proteína bruta	17,7	17,7	18,1	18,1

5.2.5. Instalaciones experimentales.

Las instalaciones experimentales estuvieron situadas en Navas de Arévalo, Ávila. Los animales experimentales se alojaron al azar en 16 réplicas. Cada cuadra medía 7,4m² útiles (densidad: 0,25 m²/cerdo hasta 20kg). La nave poseía un sistema de iluminación natural (ventanas a ambos lados) y artificial no programable. Las cuadras tenían suelo de hormigón con rejilla y el sistema de ventilación se regulaba mediante ventiladores conectados a un sensor de temperatura. La temperatura se ajustó semanalmente de acuerdo con la edad de los animales. Las dietas y el agua se ofrecieron *ad libitum* mediante un comedero de hormigón con tolva (93x33cm²) de 4 bocas (14cm de diámetro), y los bebederos de cazoleta situados en el interior de cada cuadra.

5.2.6. Parámetros analizados y cálculo de parámetros.

Se tomó el peso de los animales al inicio de la prueba para equilibrar los tratamientos, al cambio de dieta de prestarter a starter, 8 días post destete (49d de vida), a los 22d post destete (63d de vida) y a los 35d post destete (76d de vida). Se anotaron las bajas y los animales retirados con su causa, su fecha y su peso. Con los incrementos de peso por réplica se calculó la ganancia media diaria. El consumo de pienso por réplica se controló en los controles de peso efectuados, y con ello se calculó el consumo medio diario por réplica. El índice de conversión por réplica se calculó como el cociente entre el consumo medio y la ganancia de peso medio por réplica.

5.2.7. Análisis estadístico.

Los datos fueron analizados mediante un análisis de varianza por el procedimiento lineal general. El modelo incluyó el peso inicial como covariable, y el tratamiento experimental. Los datos se expresan por medias corregidas por mínimos cuadrados, y se realizó una comparación de medias corregidas por Bonferroni.

$$Y_{ij} = \text{Peso}_{0j} + \text{Tratamiento}_i + \varepsilon_{ij}$$

Los datos de mortalidad se analizaron como variables no continuas, mediante una prueba χ^2 y se expresan como el porcentaje de animales fallecidos o retirados de prueba por tratamiento.

5.3. Resultados.

5.3.1. Productividad.

Los lechones se destetaron con 28 días de vida. Tras comer el pienso prestarter común, los lechones alcanzaron un peso de $7,56 \pm 0,84$ kg con medias de 7,5, 7,6, 7,6 y 7,6 kg para ZnO, A, B, A+B, respectivamente.

El efecto del tratamiento sobre el peso se muestra en la Tabla 5.3.1.1. En cuanto al peso, no hubo diferencias significativas entre tratamientos en ninguno de los tres casos (12,00, 11,42, 11,48 y 11,32 kg a 49d para ZnO, A, B, A+B, respectivamente $P > 0,05$; 19,56, 18,71, 18,62, 18,67 kg a 63d para ZnO, A, B, A+B, respectivamente, $P > 0,05$; y 26,27, 25,46, 25,26 y 25,35 kg a 76d para ZnO, A, B, A+B, respectivamente, $P > 0,05$).

Tabla 5.3.1.1. Efecto del tratamiento sobre el peso a los 49,63 y 76d de vida. (ZnO: Control con óxido de zinc; A: Control con una mezcla de ácidos orgánicos, mono, di y triglicéridos de ácidos orgánicos y aceites esenciales; B: Control con una mezcla de ácido láurico y ésteres de ácido láurico y mirístico; A+B: Control con una mezcla de ácidos orgánicos, mono, di y triglicéridos de ácidos orgánicos y aceites esenciales y con una mezcla de ácido láurico y ésteres de ácido láurico y mirístico).

Tratamiento	PESO (kg) 49d	PESO (kg) 63d	PESO (kg) 76d
ZnO	12,00	19,56	26,27
A	11,42	18,71	25,46
B	11,48	18,62	25,26
A+B	11,32	18,67	25,35
EEM ¹ (n=4)	0,250	0,544	0,753
Peso 36d	<0,001	<0,001	<0,001
Tratamiento	0,271	0,586	0,770

¹Medias con distinto superíndice son distintos.

¹EEM: Error Estándar de la media.

El efecto del tratamiento sobre la productividad entre 35 y 49d de vida se muestra en la Tabla 5.3.1.2. No hubo diferencias significativas entre tratamientos para el crecimiento (317, 276, 280 y 268 g/d para ZnO, A, B, A+B, respectivamente, $P > 0,05$). En el caso del consumo, no existen diferencias significativas entre tratamientos para el consumo de pienso, pero si se observa una tendencia a que existan diferencias significativas (490, 439, 436 y 452 g/d para ZnO, A, B, A+B, respectivamente, $P = 0,067$). En el caso del índice de transformación, no se observaron diferencias significativas entre tratamientos (0,64, 0,63, 0,64 y 0,59 g/g para ZnO, A, B, A+B, respectivamente, $P > 0,05$).

Tabla 5.3.1.2. Efecto del tratamiento sobre el crecimiento, el consumo de pienso e índice de transformación entre 35 y 49d de vida. ZnO: Control con óxido de zinc; A: Control con una mezcla de ácidos orgánicos, mono, di y triglicéridos de ácidos orgánicos y aceites esenciales; B: Control con una mezcla de ácido láurico y ésteres de ácido láurico y mirístico; A+B: Control con una mezcla de ácidos orgánicos, mono, di y triglicéridos de ácidos orgánicos y aceites esenciales y con una mezcla de ácido láurico y ésteres de ácido láurico y mirístico).

Tratamiento	Crecimiento (g/d)	Consumo de pienso (g/d)	Índice transformación (g/g)
ZnO	317	490	0,64
A	276	439	0,63
B	280	436	0,64
A+B	268	452	0,59
EEM ¹ (n=4)	18	14	0,025
Peso 36d	0,003	0,001	0,039
Tratamiento	0,271	0,067	0,483

*Medias con distinto superíndice son distintos.

¹EEM: Error Estándar de la media.

El efecto del tratamiento sobre la productividad entre 49 y 63d de vida se muestra en la Tabla 5.3.1.3. No hubo diferencias significativas ni para el crecimiento (540, 521, 510 y 525 g/d para ZnO, A, B, A+B, respectivamente, P>0,05), ni para el consumo de pienso (802, 775, 765 y 764 g/d para ZnO, A, B, A+B, respectivamente, P>0,05), ni para el índice de conversión (0,67, 0,67, 0,67 y 0,69 g/g para ZnO, A, B, A+B, respectivamente, P>0,05).

Tabla 5.3.1.3. Efecto del tratamiento sobre el crecimiento, el consumo de pienso e índice de transformación entre 49 y 63d de vida. (ZnO: Control con óxido de zinc; A: Control con una mezcla de ácidos orgánicos, mono, di y triglicéridos de ácidos orgánicos y aceites esenciales; B: Control con una mezcla de ácido láurico y ésteres de ácido láurico y mirístico; A+B: Control con una mezcla de ácidos orgánicos, mono, di y triglicéridos de ácidos orgánicos y aceites esenciales y con una mezcla de ácido láurico y ésteres de ácido láurico y mirístico).

Tratamiento	Crecimiento (g/d)	Consumo de pienso (g/d)	Índice transformación (g/g)
ZnO	540	802	0,67
A	521	775	0,67
B	510	765	0,67
A+B	525	764	0,69
EEM ¹ (n=4)	28	32	0,013
Peso 36d	0,009	0,001	0,556
Tratamiento	0,900	0,825	0,731

*Medias con distinto superíndice son distintos.

¹EEM: Error Estándar de la media.

El efecto del tratamiento sobre la productividad para el conjunto del ensayo (entre 63 y 76d) de vida se muestra en la Tabla 5.3.1.4. No hubo diferencias significativas del tratamiento sobre el crecimiento (516, 519, 511 y 514g/d para ZnO, A, B, A+B, respectivamente, $P>0,05$). Tampoco hubo diferencias significativas para el consumo de pienso (884, 864, 840 y 849g/d para ZnO, A, B, C_A+B, respectivamente, $P>0,05$) ni para el índice de transformación (0,59, 0,60, 0,61 y 0,61 g/g para ZnO, A, B, A+B, respectivamente, $P>0,05$).

Tabla 5.3.1.4. Efecto del tratamiento sobre el crecimiento, el consumo de pienso e índice de transformación entre 63 y 76d de vida. (ZnO: Control con óxido de zinc; A: Control con una mezcla de ácidos orgánicos, mono, di y triglicéridos de ácidos orgánicos y aceites esenciales; B: Control con una mezcla de ácido láurico y ésteres de ácido láurico y mirístico; A+B: Control con una mezcla de ácidos orgánicos, mono, di y triglicéridos de ácidos orgánico y aceites esenciales y con una mezcla de ácido láurico y ésteres de ácido láurico y mirístico).

Tratamiento	Crecimiento (g/d)	Consumo de pienso (g/d)	Índice transformación (g/g)
ZnO	516	884	0,59
A	519	864	0,60
B	511	840	0,61
A+B	514	849	0,61
EEM ¹ (n=4)	25	26	0,019
Peso 36d	0,022	<0,001	0,223
Tratamiento	0,995	0,662	0,896

^{*}Medias con distinto superíndice son distintos.

¹EEM: Error Estándar de la media.

El efecto del tratamiento sobre la productividad para el conjunto del ensayo (entre 35 y 76d) de vida se muestra en la Tabla 5.3.1.5. De nuevo, no hubo diferencias significativas en crecimiento entre los lechones de los cuatro tratamientos (456, 437, 432 y 434 g/d para ZnO, A, B, A+B, respectivamente, $P>0,05$), ni en el consumo de pienso (719, 684, 672 y 680 g/d para ZnO, A, B, A+B, respectivamente, $P>0,05$), ni en el índice de conversión (0,63, 0,64, 0,64, 0,64 g/g para ZnO, A, B, A+B, respectivamente, $P>0,05$).

Tabla 5.3.1.5. Efecto del tratamiento sobre el crecimiento, el consumo de pienso e índice de transformación entre 35 y 76d de vida. (ZnO: Control con óxido de zinc; A: Control con una mezcla de ácidos orgánicos, mono, di y triglicéridos de ácidos orgánicos y aceites esenciales; B: Control con una mezcla de ácido láurico y ésteres de ácido láurico y mirístico; A+B: Control con una mezcla de ácidos orgánicos, mono, di y triglicéridos de ácidos orgánicos y aceites esenciales y con una mezcla de ácido láurico y ésteres de ácido láurico y mirístico).

Tratamiento	Crecimiento (g/d)	Consumo de pienso (g/d)	Índice transformación (g/g)
ZnO	456	719	0,63
A	437	684	0,64
B	432	672	0,64
A+B	434	680	0,64
EEM ¹ (n=4)	18	22	0,010
Peso 36d	0,002	<0,001	0,963
Tratamiento	0,770	0,473	0,978

^{*}Medias con distinto superíndice son distintos.

¹EEM: Error Estándar de la media.

5.3.2. Mortalidad y retirados de la prueba.

Antes del inicio de las dietas experimentales, entre 28 y 35d de vida, hubo una baja perteneciente a ZnO, otra perteneciente al A y se retiró un lechón del A+B, que no se han tenido en cuenta para el análisis.

Asimismo, el primer día de ensayo y a los 12 días de este, ante algunos síntomas de meningitis, se decidió tratar a todos los animales con amoxicilina (Paracilin, MSD Animal Health, 400g/1.000 l agua, 5d), y a los 20 días u ante la aparición de blandeos de heces generalizados y se trató con FORCYL SWINE (Marbofloxacino, 1ml 1 día).

El efecto del tratamiento sobre la mortalidad para el conjunto del ensayo (entre 35 y 76d) de vida se muestra en la Tabla 5.3.2.1. No hubo un efecto del tratamiento sobre el total de animales que causaron baja por una u otra razón, (7,6, 5,1, 4,1 y 6,7% para ZnO, A, B, A+B, respectivamente, P>0,05).

Tabla 5.3.2.1. Efecto del tratamiento sobre la mortalidad entre 35 y 76d de vida. (ZnO: Control con óxido de zinc; A: Control con una mezcla de ácidos orgánicos, mono, di y triglicéridos de ácidos orgánicos y aceites esenciales; B: Control con una mezcla de ácido láurico y ésteres de ácido láurico y mirístico; A+B: Control con una mezcla de ácidos orgánicos, mono, di y triglicéridos de ácidos orgánicos y aceites esenciales y con una mezcla de ácido láurico y ésteres de ácido láurico y mirístico).

Tratamiento	Mortalidad (%)
ZnO	7,6
A	5,1
B	4,1
A+B	6,7
P	0,760

^{*}Medias con distinto superíndice son distintos.

5.4. Discusión.

Ya se ha comentado con anterioridad el gran problema que supone la aparición de diarrea en lechones los primeros días posteriores al destete. También se ha comentado que hay que tener en cuenta muchos factores y trabajar tanto a nivel nutricional como a nivel de higiene, manejo, programas de vacunación etc para buscar una solución a dicho problema. En el presente ensayo, nos hemos basado en estrategias nutricionales pero esta alternativa tiene que ir ligada con unas buenas condiciones sanitarias y de higiene dentro de la granja.

En el presente ensayo, los animales que comieron dietas suplementadas con óxido de zinc presentan valores de peso similares a los suplementados con A, B y A+B, sin presentar diferencias significativas en ninguno de los 3 periodos, ni en el periodo global. En cuanto a los parámetros productivos, los lechones que fueron alimentados con dietas con óxido de zinc no presentan diferencias significativas en el crecimiento, en el consumo de pienso, ni en el índice de transformación con los animales que comieron A, B y A+B. No se ha observado una mejora ni en el peso ni en los parámetros productivos como esperábamos, pero no se han observado diferencias significativas con los lechones que consumieron dietas suplementadas con óxido de zinc, lo que nos ayuda a tener una visión sobre la posibilidad de utilizar los ácidos orgánicos, mono, di y triglicéridos de ácidos orgánicos, y los aceites esenciales como posible alternativa al uso de óxido de zinc. También se ha observado que no existen diferencias significativas en el consumo de pienso, por lo que hemos conseguido que los aditivos que hemos añadido en la dieta han tenido un papel similar al óxido de zinc ya que no ha habido incidencia de diarrea en los lechones que no consumieron dietas suplementadas con óxido de zinc.

Estos resultados los podemos comparar con los observados por Phillips et al., (2021) donde indican que una solución de diarreas en lechones destetados podría ser una dieta que incluyó una mezcla de mono di y triglicéridos de ácidos orgánicos en la dieta. También con los estudios de Bergsson et al., (2001), Kitahara et al., (2004) y Yoon et al., (2018), donde observaron que los ácidos orgánicos, mono, di y triglicéridos de ácidos orgánicos tienen una fuerte actividad antibacteriana contra bacterias Gram positivas y Gram negativas reduciendo con ello la aparición de diarrea los días posteriores al destete. Estos resultados también se pueden comparar con los obtenidos por Kitahara et al., (2004) y Thomas et al., (2020) que observaron que la monolaurina tiene un efecto beneficioso sobre la salud intestinal de los lechones los primeros días posteriores al destete. Por otro lado, el efecto

de los ésteres de ácido mirístico se puede explicar con los resultados obtenidos por (Skrivanova et al., 2005) donde observaron la vulnerabilidad de *Clostridium perfringens* a la adición de ácido mirístico. Además, como explican Aviles-Rosa et al., (2020) el ácido mirístico puede ayudar a los lechones a sentirse más atraídos por el comedero, sin embargo, no se han observado diferencias significativas en el consumo de pienso con respecto a los animales que fueron alimentados con dietas suplementadas con óxido de zinc.

Se concluye que bajo las condiciones en las que se realizaron este ensayo, no hubo diferencias significativas entre el uso de óxido de zinc y las dos combinaciones de monoglicéridos o su uso conjunto. Además, no se observa un consumo de pienso menor por la adición de estas combinaciones de ácidos orgánicos, mono, di y triglicéridos de ácidos orgánicos y aceites esenciales en el pienso. No se ha observado una mejora adicional por la adición de monoglicéridos de ácido láurico y mirístico, a la combinación de ácidos orgánicos, monoglicéridos de ácidos orgánicos y aceites esenciales. Sin embargo, hay que tener en cuenta que se medicaron los animales con marbofloxacino y que podría tener cierto efecto en los resultados y por tanto, es preciso hacer más estudios. En base a estos resultados se concluye que es posible retirar el óxido de zinc entre 36 y 76d de vida sin un efecto en la productividad o la salud de los lechones.

5.5. Bibliografía.

- Altieri, C., Bevilacqua, A., Cardillo, D., Sinigaglia, M., 2009. Effectiveness of fatty acids and their monoglycerides against gram-negative pathogens. *Int. J. Food Sci. Technol.* 44, 359-366. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2008.01744.x>.
- Aviles-Rosa, E.O., Surowiec, K., McGlone, J., 2020. Identification of faecal maternal semiochemicals in swine (*Sus scrofa*) and their effects on weaned piglets. *Sci Rep* 10, 549. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-62280-9>.
- Bergsson, G., Arnfinnsson, J., Steingrímsson, O., Thormar, H., 2001. In vitro killing of *Candida albicans* by fatty acids and monoglycerides. *Antimicrob. Agents Chemother.* 45, 3209-3212. <https://doi.org/10.1128/AAC.45.11.3209-3212.2001>.
- Canfora, E.E., Jocken, J.W., Blaak, E., 2015. Short-chain fatty acids in control of body weight and insulin sensitivity. *Nat. Rev. Endocrinol.* 11, 577-591. <https://doi.org/10.1038/nrendo.2015.128>.
- Den Besten, G., van Eunen, K., Groen, A.K., Venema, K., Reijngoud, D-J., Bakker, B.M., 2013. The role of short-chain fatty acids in the interplay between diet, gut microbiota, and host energy metabolism. *J. Lipid. Res.* 54, 2325-2340. <https://doi.org/10.1194/jlr.R036012>.
- Diao, H., Zheng, P., Yu, B., He, J., Mao, X.B., Yu, J., Chen, D.W., 2014. Effects of dietary supplementation with benzoic acid on intestinal morphological structure and microflora in weaned piglets. *Livest. Sci.* 167, 249-256. <https://doi.org/10.1016/j.livsci.2014.05.029>.
- European Commission, 2017. Commission implementing decision of concerning, in the framework of Article 35 of Directive 2011/82/CE of the European Parliament and of the Council, the marketing authorizations for veterinary medicinal products containing “zinc oxide” to be administered orally to food producing species. Brussels, 4529 final.
- Gabert, V.M., Sauer, W.C., 1994. The effects of supplementing diets for weaning pigs with organic acids. A review. *J. Anim. Feed Sci.* 3, 73-87. <https://doi.org/10.22358/jafs/69821/1994>.
- Goodband, B., DeRouchey, J., Tokach, M., Dritz, S., Nelssen, J., 2006. Strategies for feeding weaned pigs. Proc. London Swine Conf.
- Hijova, E., Chmelarova, A., 2007. Short chain fatty acids and colonic health. *Bratisl. Lek. List.* 108, 354-358.

- Jackman, J. A., Boyd, R. D., Elrod, C. C., 2020. Medium-chain fatty acids and monoglycerides as feed additives for pig production: Towards gut health improvement and feed pathogen mitigation. *J. Anim. Sci. Biotechnol.* 11, 44. <https://doi.org/10.1186/s40104-020-00446-1>.
- Kitahara, T., Koyama, N., Matsuda, J., Aoyama, Y., Hirikata, Y., Kamihita, S., Kohno, S., Nakashima, M., Sasaki, H., 2004. Antimicrobial activity of saturated fatty acids and fatty amines against methicillin resistant *Staphylococcus aureus*. *Bio. Pharm. Bull.* 27, 1321-1326. <https://doi.org/10.1248/bpb.27.1321>.
- Le Dividich, J., Sève, B., 2000. Energy requirement of the young piglet. Chapter 2 In: Wiseman, J., (Ed.), *The Weaner Pig*. CAB International, Oxford, in press.
- Ma, J., Long, S., Wang, J., Gao, J., Piao, X., 2022. Microencapsulated essential oils combined with organic acids improves immune antioxidant capacity and intestinal barrier function as well as modulates the hindgut microbial community in piglets. *J. Anim. Sci. Biotechnol.* 13, 16. <https://doi.org/10.1186/s40104-021-00670-3>.
- Mateos, G., Kadardar, H., Dardabou, L., Fernández, A., Luna, N., Aguirre, L., 2021. Estrategias nutricionales para la prevención y control de procesos digestivos en lechones posdestete en ausencia de óxido de zinc en el pienso (I). *Suis*, 178.
- Morel, P.C.H., Chidgey, K.L., Jenkinson, C.M.C., Lizarraga, I., Shreurs, N.M., 2019. Effect of benzoic acid, sodium butyrate and sodium butyrate coated with benzoic acid on growth performance, digestibility, intestinal morphology and meat quality in grower-finisher pigs. *Livest. Sci.* 226, 107-113. <https://doi.org/10.1016/j.livsci.2019.06.009>.
- Mroczek, I., Frankiewicz, A., Selwet, M., 2005. The effect of acidifying additives on the microbiological stability of feed mixtures. *J. Anim. Feed Sci.* 14, 385-388. <https://doi.org/10.22358/jafs/70586/2005>.
- Omonijo, F.A., Ni, L., Gong, J., Wang, Q., Lahaye, L., Yang, C., 2018. Essential oils as alternatives to antibiotics in swine production. *Anim. Nutr.* 4, 126-136. <https://doi.org/10.1016/j.aninu.2017.09.001>.
- Phillips, F.C., Rubach, J.K., Poss, M.J., Anam, S., Goyal, S.M., Dee, S.A., 2021. Monoglyceride reduces viability of porcine epidemic diarrhoea virus in feed and prevents disease transmission to post-weaned piglets. *Transbound. Emerg. Dis.* 69, 121-127. <https://doi.org/10.1111/tbed.14353>.

- Pluske, J. R., Pethick, D. W., Hopwood, D. E., Hampson, D. J., 2002. Nutritional influences on some major enteric bacterial diseases of pig. *Nutr. Res. Rev.* 15, 333-371. <https://doi.org/10.1079/nrr200242>.
- Pluske, J.R., Turpin, D.L., Kim, J.C., 2018. Gastrointestinal tract (gut) health in the young pig. *Anim. Nutr.* 4, 187-196. <https://doi.org/10.1016/j.aninu.2017.12.004>.
- Regulation (EC) N° 1831/2003, of the European Parliament and of the Council of 22 September 2003 on additives for use in animal nutrition. O. J. E. U. 268, 29–43.
- Sikkema, J., De Bont, J.A., Poolman, B., 1994. Interactions of cyclic hydrocarbons with biological membranes. *J. Biol. Chem.* 269, 8022-8028. [https://doi.org/10.1016/S0021-9258\(17\)37154-5](https://doi.org/10.1016/S0021-9258(17)37154-5).
- Skřivanová, E., Marounek, M., Dlouhá, G., Kanka, J., 2005. Susceptibility of *Clostridium perfringens* to C2–C18 fatty acids. *Letters in Applied Microbiology* 41, 77-81. <https://doi.org/10.1111/j.1472-765X.2005.01709.x>.
- Skřivanová, E., Molatová, Z., Skřivanová, V., Marounek, M., 2009. Inhibitory activity of rabbit milk and medium-chain fatty acids against enteropathogenic *Escherichia coli* O128. *Vet. Microbiol.* 135, 358-362. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2008.09.083>.
- Suiryanrayna M., Ramana, J. V., 2015. A review of the effects of dietary organic acids fed to swine. *J. Anim. Sci. Biotechnol.* 6, 45. <https://doi.org/10.1186/s40104-015-0042-z>.
- Thacker, P.A., 2013. Alternatives to antibiotics as growth promoters for use in swine production: a review. *J. Anim. Sci. Biotechnol.* 4, 35. <https://doi.org/10.1186/2049-1891-4-35>.
- Thomas, L.L., Woodworth, J.C., Tokach, M.D., Dritz, S.S., DeRoeuchey, J.M., Goodband, R.D., Williams, H.E., Hartman, A.R., Mellick, D.J., McKilligan, D.M., Jones, A.M., 2020. Evaluation of different blends of medium-chain fatty acids, lactic acid, and monolaurin on nursery pig growth performance. *Transl. Anim. Sci.* 4, 548-557. <https://doi.org/10.1093/tas/txaa024>.
- Torrallardona, D., Badiola, I., Broz, J., 2007. Effects of benzoic acid on performance and ecology of gastrointestinal microbiota in weanling piglets. *Livest. Sci.* 108, 210-213. <https://doi.org/10.1016/j.livsci.2007.01.062>.
- Valenzuela-Grijalva, N. V., Pinelli-Saavedra, A., Muhlia-Almazan, A., Domínguez-Díaz, D., González-Ríos, H., 2017. Dietary inclusion effects of

- phytochemicals as growth promoters in animal production. *J. Anim. Sci. Technol.* 59, 8. <https://doi.org/10.1186/s40781-017-0133-9>.
- Valle-González, E.R., Jackman, J.A., Yoon, B.K., Park, S., Sut, T.N., Cho, N.J., 2018. Characterizing how acid pH conditions affect the membrane-disruptive activities of lauric acid and glycerol monolaurate. *Langmuir* 34, <https://doi.org/10.1021/acs.langmuir.8b02536>.
 - Vaara, M., 1992. Agents that increase the permeability of the outer membrane. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* 56, 395-411. <https://doi.org/10.1128/mr.56.3.395-411.1992>.
 - Walia, K., Argüello, H., Lynch, H., Leonard, F.C., Grant, J., Yearsley, D., Kelly, S., Duffy, G., Gardiner, G.E., Lawlor, P.G., 2017. Effect of strategic administration of an encapsulated blend of formic acid, citric acid, and essential oils on Salmonella carriage, seroprevalence, and growth of finishing pigs. *Prev. Vet. Med.* 137, 28-35. <http://dx.doi.org/10.1016/j.prevetmed.2016.12.007>.
 - Xu, Y.T., Liu, L., Long, S.F., Pan, L., Piao, X.S., 2020. Effect of organic acids and essential oils on performance, intestinal health and digestive enzyme activities of weaned pigs. *J. Anim. Sci. Technol.* 235, 110-119. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2017.10.012>.
 - Yang, C., Zhang, L., Cao, G., Feng, J., Yue, M., Xu, Y., Dai, B., Han, Q., Guo, X., 2019. Effects of dietary supplementation with essential oils and organic acids on the growth performance, immune system, fecal volatile fatty acids and microflora community in weaned piglets. *J. Anim. Sci.* 97, 133-143. <https://doi.org/10.1093/jas/sky426>.
 - Yoon, B. K., Jackman, J. A., Valle-González, E. R., & Cho, N. J., 2018. Antibacterial free fatty acids and monoglycerides: Biological activities, experimental testing, and therapeutic applications. *Int. J. Mol. Sci.* 19, 1114. <https://doi.org/10.3390/ijms19041114>.

CAPITULO 6. “Efecto de la suplementación de concentrados de fibra insoluble, triglicéridos de ácido butírico, mono, di y triglicéridos de ácido láurico y mirístico a una dieta suplementada con ácidos orgánicos, mono, di y triglicéridos de ácidos orgánicos de cadena corta y media y aceites esenciales sobre la salud y productividad de lechones recién destetados”.

6.1. Introducción.

En la industria porcina, el destete es un proceso muy complicado para los lechones debido a que no tienen el tracto gastrointestinal (GIT) ni el sistema inmunológico desarrollados (Bailey et al., 2005). Supone mucho estrés para los animales en sus primeras semanas de vida, el cual está asociado a un retraso en el inicio de la ingesta de alimento y, por tanto, una ralentización en el crecimiento (Lallés et al., 2004; Laine et al., 2008). Los primeros 14 días posteriores al destete los lechones son muy vulnerables al desarrollo de bacterias patógenas en el tracto gastrointestinal, ocasionando diarrea post destete (PWD) (McCracken et al., 1999; Spreeuwenberg et al., 2001). La PWD es una enfermedad entérica de elevada importancia debido a las pérdidas económicas que suponen (Dubreuil, 2017). Aunque la PWD generalmente se asocia con la proliferación de *Escherichia coli*, en realidad es una enfermedad que depende de muchos factores como interacciones entre la cerda y el lechón, adaptación a nuevo entorno, condiciones de higiene o manejo de los animales. Respecto al manejo, posiblemente una de las medidas más efectivas es el incremento de la edad al destete (Goodband et al., 2006). Los problemas de PWD, en muchas ocasiones se inician en camadas que al destete tienen animales inferiores a 3,5 kg, debido a un peso bajo al nacimiento y a un bajo consumo de alimento (pienso o leche). Una mejora a este problema es iniciar de forma rápida ese consumo de alimento y conseguir camadas con pesos más uniformes (Le Dividich y Sève, 2000). El objetivo que se persigue es que el animal antes del destete compruebe que hay una alternativa disponible a la leche materna, de esta forma, el animal que ha comido pequeñas cantidades de pienso días previos al destete sufrirá menos estrés y horas después del destete el lechón sea capaz de comer pienso sin problema (Le Dividich y Sève, 2000).

Este problema se ha tratado a lo largo de los años utilizando los antibióticos de forma preventiva, lo que ha derivado en la aparición de resistencias de las bacterias a los antimicrobianos (Nhung et al., 2016). Dicho problema conllevó a la prohibición total de los antibióticos como promotores del crecimiento en alimentación animal en la Unión Europea en enero de 2006 (Reglamento (EC) N° 1831/2003).

Aparte de los antibióticos, se han utilizado oligoelementos como el zinc (en forma de óxido de zinc). Para el control de diarreas, se usa a dosis muy superiores a las utilizadas como aditivos (150 vs 3.000 ppm), por lo que su uso se considera terapéutico. Varios estudios demostraron que el óxido de zinc en dosis farmacológicas (2.000-3.000 ppm) disminuyen la aparición de la PWD (Ou et al., 2007; Zhang and Guo., 2009; Shen et al.,

2014). Como se ha ido comentando a lo largo de la tesis doctoral, el uso del óxido de zinc a dosis farmacológicas está prohibido desde junio de 2022 (Comisión Europea, 2017).

Como explican Mateos, et al. (2021) para eliminar y reducir el uso del óxido de zinc manteniendo los niveles de productividad, es necesario introducir cambios en todas las áreas de producción porcina incluyendo el diseño de las naves, el manejo y movimiento de animales dentro de la explotación, la higiene de las instalaciones, la reducción de las posibles causas de estrés de los lechones, los programas preventivos incluyendo programas de vacunación y cambios en el diseño de la alimentación (Pluske et al., 2002; Goodband et al., 2006; Pluske et al., 2018).

En el ámbito de las estrategias nutricionales, una posible alternativa es el uso de fibra insoluble en las dietas de los lechones las primeras semanas post destete. La fibra insoluble está formada por polímeros de carbohidratos que son total o parcialmente fermentados en el intestino grueso (Rebello et al., 2016). Sus efectos dependen del tamaño de partícula, solubilidad, viscosidad y capacidad de retención de agua. La fibra insoluble está formada por componentes de la pared celular que atraviesan el tracto gastrointestinal sin verse afectados por la hidrólisis enzimática hasta llegar al intestino grueso, donde sirven como sustrato para la fermentación bacteriana (Jha et al., 2019). Según el estudio de Jha and Berrocoso (2016) las bacterias intestinales pueden producir ácidos orgánicos al fermentar la fibra insoluble presente en la dieta y, por tanto, mejorar la función inmunológica y salud intestinal del lechón. Los estudios de Wu et al. (2018) y Jha et al. (2019) también explican el efecto beneficioso de la fibra en la microbiota intestinal e inmunidad de lechones recién destetados. Otros estudios explican que la adición de fibra en la dieta de los lechones las primeras semanas tras el destete mejora el rendimiento del crecimiento (Sun et al., 2021) el consumo de pienso y la ganancia media diaria de los lechones (Schedle et al., 2008).

Entre los aditivos a destacar están los ácidos orgánicos (AO), aditivos que forman parte del grupo de los conservantes (Registro de aditivos para piensos de la Unión Europea de acuerdo con el reglamento 1831/2003). Los AO de cadena corta como el fórmico, acético, propiónico o butírico son producidos en el intestino grueso de los mamíferos por la fermentación de carbohidratos no digeridos (Morel et al., 2019). El ácido butírico es la principal fuente de energía para los colonocitos, donde se utiliza hasta en un 90%, tiene un efecto positivo en el desarrollo del epitelio intestinal. El ácido acético es transportado desde el colon hasta el hígado donde se utiliza hasta en un 70%, como fuente de energía para los hepatocitos. El ácido propiónico es el principal precursor de la glucogénesis en el hígado

y es necesario para la formación de energía en el organismo (Hijova and Chmelarova, 2007; Den Besten et al., 2013, Canfora et al., 2015). Su acción antibacteriana consiste en que la forma no disociada del ácido penetre a través de la membrana y llegue hasta el citoplasma (Nowak et al., 2021). Los ácidos orgánicos de cadena media se definen como ácidos grasos saturados con cadenas de hidrocarburos de 6 a 12 moléculas de carbono y se presentan como ácidos libres o formando mono, di y triglicéridos (MG) (Jackman et al., 2020). Ambas moléculas tienen una fuerte actividad antibacteriana contra bacterias Gram positivas (*Clostridium perfringens*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus suis*) (Bergsson et al., 2001) o Gram negativas (*Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium*) (Skřivanová et al., 2009), ya sea en forma libre o como MG (Yoon et al., 2018).

Dentro del grupo de los AO de cadena larga, tiene especial interés el ácido láurico y el ácido mirístico. Como explican Valle-González et al., (2018), el ácido láurico se considera el ácido orgánico más inhibidor contra bacterias Gram positivas. Su derivado en forma de monoglicérido, la monolaurina, tiene potentes efectos antibacterianos, demuestra mayor potencia (más efectivo a menor concentración), aunque contra un espectro más reducido de bacterias susceptibles (Kitahara et al., 2004). El ácido mirístico tiene un alto poder antibacteriano contra *Escherichia coli* y *Salmonella typhimurium* (Alteri et al., 2009), por lo que su uso puede ser una buena alternativa para disminuir el riesgo de proliferación de bacterias patógenas y con ello reducir la aparición de PWD.

Por otro lado, las tributirinas son moléculas de ácido butírico unidas a una molécula de glicerol mediante el proceso de esterificación. Son moléculas muy estables frente a cambios de pH y, por tanto, muy estables durante el tránsito digestivo hasta llegar al intestino delgado donde se disocian en ácido butírico y glicerol por acción de las lipasas (Mallo et al., 2012). Esta liberación de ácido butírico en el tracto gastrointestinal hace que su absorción sea rápida y, por consiguiente, afecta de forma positiva al desarrollo del epitelio intestinal y a la respuesta inmune. La tributirina tiene la capacidad de modificar la profundidad de las criptas y las vellosidades intestinales (Zhang et al., 2020), mejorando así la salud digestiva de los lechones. Además, la suplementación con tributirina mejora la digestibilidad de las proteínas mejorando el rendimiento del crecimiento (Sotira et al., 2020).

Según Mroczek et al. (2005) los AO pueden reducir el contenido de microorganismos patógenos en el pienso y mejorar la productividad al reducir la PWD, ya que reducen el pH de la dieta, manteniendo el equilibrio de la microflora (Torrallardona et al., 2007; Diao et

al., 2014; Suiryanrayna y Ramana, 2015). Debido a que son moléculas más anfifílicas, los MG forman micelas en concentraciones más bajas que los AO, lo que sugiere que su acción puede ser más potente (Phillips et al., 2021). El uso de estos compuestos en alimentación animal tiene algunos aspectos negativos como el olor desagradable, la insolubilidad en agua y en algunos casos problemas en la palatabilidad del pienso. Por otro lado, la actividad bactericida de los AO depende del pH (Valle-González et al., 2018; Jackman et al., 2020;) siendo más eficaces a pH inferiores a su pKa, por ser mayor la fracción no disociada, por lo que pierden efectividad en pH neutros posteriores al estómago de los animales (Thacker, 2013). La acción de los MG es independiente del pH ya que la molécula es estable a diferentes pH por no disociarse. Además, los MG son solubles en agua (excepto MC12) lo que permite la administración en agua de bebida y no tienen el olor tan desagradable como los AO, por lo que tendrá mayor palatabilidad para el animal.

Otra alternativa es el uso de aceites esenciales (AE), aditivos que forman parte del grupo aromatizantes (Registro de aditivos para piensos de la Unión Europea de acuerdo con el reglamento 1831/2003). Los AE son compuestos bioactivos naturales derivados de plantas o sus análogos sintéticos que en determinadas circunstancias han demostrado reemplazar potencialmente el uso de determinados antibióticos (Valenzuela-Grijalva et al., 2017). Varios estudios han demostrado que los AE pueden dañar la estructura celular del patógeno alterando los lipopolisacáridos de la membrana celular (Vaara, 1992; Sikkema et al., 1994). Omonijo et al. (2018) explicaron que los AE modifican la estructura y permeabilidad de la célula bacteriana, lo que aumenta la posibilidad de exposición a los AO. En el estudio de Yang et al., (2019) explican que la adición de diferentes tipos de AE fue eficaz para mejorar el rendimiento y el sistema inmunológico, mejorar la salud intestinal y disminuir la incidencia de PWD.

Con los estudios realizados hasta el momento, se puede afirmar que no hay un único compuesto que sea capaz de reducir el uso de antibióticos en su totalidad (Ferronato & Prandini, 2020). Varios estudios demostraron que la combinación entre los AE y los AO puede ser una alternativa potencial al uso de los antibióticos las primeras semanas postdestete (Walia et al., 2017; Ma et al., 2022). En los estudios de Xu et al., (2017, 2020), demostraron que dicha combinación tiene efectos interactivos sobre la salud intestinal de los lechones, ya que supone una mejora de la barrera intestinal y un aumento de la microflora beneficiosa.

En los ensayos anteriores se ha observado un efecto beneficioso de los MG, AO y AE sobre la productividad de los lechones las primeras semanas posteriores al destete. En los casos anteriores se ha partido de una dieta control suplementada con dosis farmacológicas de óxido de zinc. En esta última prueba, se ha querido eliminar del todo el óxido de zinc y partir de una dieta control suplementada con AO, MG de ácidos orgánicos y AE, dicha dieta es común para todos los tratamientos.

Además, se ha querido comprobar de nuevo, al igual que se indicó en el capítulo 5, si existe sinergia o complementariedad con los ésteres de láurico (MC12) y mirístico sobre la productividad y la salud de los lechones recién destetados, al igual que se ha querido hacer en el capítulo 5.

El objetivo de este estudio ha sido analizar si otros ingredientes como los concentrados de fibra insoluble, los ésteres de ácido butírico, los ésteres de ácido láurico y ácido mirístico pueden mejorar el efecto preventivo observado en pruebas anteriores de una mezcla de AO, MG y AE.

6.2. Material y métodos.

6.2.1. Animales experimentales

Se utilizaron un total de 480 lechones cruzados (Duroc x Landrace*Large White) procedentes de la granja El Carrascal (Villagonzalo de Coca, Segovia), mitad machos castrados y mitad hembras. Los lechones se destetaron con 28 días de vida y un peso medio de $6,30 \pm 0,10$ kg, y se distribuyeron en las cuadras de 30 lechones cada una al azar de acuerdo con el sexo y el peso vivo.

6.2.2. Diseño experimental

El diseño experimental (Tabla 6.2.2.1.) constaba de 4 tratamientos: Dieta control que contiene una mezcla compuesta de AO, MG de ácidos orgánicos y AE; Dieta control más concentrado de fibra insoluble basado en lignocelulosa (OC); Dieta control más una mezcla basada en ésteres de ácido butírico (A); Dieta control más una mezcla basada en ésteres de ácido láurico y ácido mirístico (B). La unidad experimental fue una réplica de 30 lechones del mismo sexo alojados conjuntamente y hubo 4 réplicas por tratamiento.

Tabla 6.2.2.1. *Diseño experimental.*

Tratamiento	Descripción	OC ²	A ³	B ⁴
C ¹	Dieta control			
OC	Dieta control suplementada con OC	15 kg/t		
A	Dieta control suplementada con A		3 kg/t	
B	Dieta control suplementada con B			5 kg/t

¹C: Dieta control basada en una mezcla de ácidos orgánicos, mono, di y triglicéridos de ácidos orgánicos y aceites esenciales. Lo llevan todos los tratamientos (10kg/t)

²OC: Concentrado de fibra insoluble basado en lignocelulosa.

³A: Mezcla basada en mono, di y triglicéridos de ácido butírico.

⁴B: Mezcla basada en mono, di y triglicéridos de ácido mirístico y ácido láurico.

6.2.3. Dietas experimentales.

Los animales comieron una dieta prestarter común⁴ (SETNA NUTRICIÓN) durante la primera semana post destete, momento en el que fueron asignados al azar a cada una de las cuatro dietas experimentales. Las dietas experimentales fueron formuladas por el

⁴Trigo extrusionado, haba de soja extrusionada, arroz extrusionado, trigo, cebada, suero dulce, dextrosa, plasma porcino, harina de pescado, aceite de soja, permeato de lactosa, fosfato monocalcico, concentrado de soja, ácido cítrico, carbonato cálcico, L-Lisina, L-Treonina, DL Metionina, L valina, triptófano, ZnO, corrector. Aportaba 2.640 kcal/kg de energía neta, 18,4% de proteína bruta, 1,3% de lisina digestible, 7,15 de extracto etéreo, 5,5% de lactosa, 0,69% de Ca, 0,40% de fósforo digestible.

departamento de nutrición de COPESE, para satisfacer las necesidades de los animales de acuerdo con FEDNA⁵ para lechones a estas edades.

La composición de las dietas se muestra en la Tabla 6.2.3.1. y su valor estimado en la Tabla 6.2.3.2. Las dietas fueron granuladas 70° (a la salida de matriz aproximadamente) con un diámetro de 3,5mm, y fueron ofrecidas hasta los 72d de vida *ad libitum*.

Tabla 6.4.3.1. Dietas experimentales. (C: Dieta control basada en una mezcla de ácidos orgánicos, mono, di y triglicéridos de ácidos orgánicos y aceites esenciales; OC: Dieta control más una mezcla de fibra insoluble basada en lignocelulosa; A: Dieta control más una mezcla basada en mono, di y triglicéridos de ácido butírico; B: Dieta control más una mezcla basada en mono, di y triglicéridos de ácido mirístico y ácido láurico).

Ingredientes, %	C	OC	A	B
Cebada alta	34,99	33,49	34,69	34,49
Maíz	10,78	10,80	10,80	10,80
Trigo	15,00	15,00	15,00	15,00
Harina de soja 47% PB	15,50	15,50	15,50	15,50
Glicerina	1,00	1,00	1,00	1,00
Grasa animal	3,10	3,10	3,10	3,10
Fosfato monocálcico	0,95	0,95	0,95	0,95
Carbonato cálcico	0,50	0,50	0,50	0,50
Sal	0,20	0,20	0,20	0,20
Corrector vitamínico mineral ⁶	0,30	0,30	0,30	0,30
Cloruro de colina 70%	0,03	0,03	0,03	0,03
Bht antioxidante	0,01	0,01	0,01	0,01
Mezcla de ácidos orgánicos, mono, di y triglicéridos de ácidos orgánicos y aceites esenciales (C) ⁷	1,00	1,00	1,00	1,00
Fibra insoluble basada en lignocelulosa (OC) ⁸	-	1,50	-	-
Mezcla basada en mono, di y triglicéridos de ácido butírico (A) ⁹	-	-	0,30	-
Mezcla basada en mono, di y triglicéridos de ácido mirístico y ácido láurico (B) ¹⁰	-	-	-	0,50
Lisina	1,00	1,00	1,00	1,00
Metionina	0,31	0,31	0,31	0,31
Treonina	0,29	0,29	0,29	0,29

⁶Aportado por kg de dieta: Vitamina A (3a672a, acetato de retinol): 10.000 IU; Vitamina D3 (3a671, colecalciferol): 2.000 IU; Vitamina E (3a700, alfatocoferol): 100 IU; Vitamina B12(cianocobalamina): 0,033 mg; Vitamina B6 (3a831, clorhidrato de piridoxina): 4 mg; Vitamina K3(3a710, bisulfito de sodio menadiona): 5 mg; Vitamina B1 (3a821, mononitrato de tiamina): 1,5 mg; Vitamina B2 (3a825i, riboflavina): 5 mg; Niacina (3a314): 25 mg; Pantotenato cálcico: 20 mg; Ácido fólico (3a316): 1 mg; Biotina (3a880): 0,1 mg; Cloruro de colina (3a890): 100 mg; Betaína (3a925, clorhidrato de betaína): 0,05 mg; Manganeso (3b502, óxido de manganeso (II)): 100 mg; Selenio (3b801, selenito de sodio): 0,2 mg; Zinc (3b603, óxido de zinc): 115 mg; Cobre (3b405, sulfato de cobre (II) pentahidratado): 90 mg; Iodo (3b201, yoduro potásico): 2 mg ; Hierro (3b103, sulfato de hierro (II) monohidratado): 0,1 mg.

⁷Mezcla suministrada por 3F Feed & Food.

⁸Aportada por Agromed.

⁹Mezcla suministrada por 3F Feed & Food.

¹⁰Mezcla suministrada por 3F Feed & Food.

Tabla 6.2.3.2. Valor estimado de las dietas experimentales. (C: Dieta control basada en una mezcla de ácidos orgánicos, mono, di y triglicéridos de ácidos orgánicos y aceites esenciales; OC: Dieta control más una mezcla de fibra insoluble basada en lignocelulosa; A: Dieta control más una mezcla basada en mono, di y triglicéridos de ácido butírico; B: Dieta control más una mezcla basada en mono, di y triglicéridos de ácido mirístico y ácido láurico).

Nutriente, %	C	OC	A	B
Humedad	10,98	10,92	10,97	10,89
Materia seca	89,02	89,08	89,03	89,11
Energía neta, kcal/kg	2411	2414	2418	2411
Proteína bruta	17,80	17,74	17,82	17,71
Lisina	1,29	1,29	1,29	1,28
Lisina SID ¹¹	1,18	1,18	1,18	1,18
Metionina	0,47	0,47	0,47	0,47
Metionina SID	0,44	0,44	0,44	0,44
Metionina +Cisteína	0,78	0,78	0,79	0,78
Metionina+Cisteína SID	0,71	0,71	0,712	0,71
Arginina	1,03	1,03	1,03	1,03
Triptófano	0,27	0,27	0,27	0,27
Triptófano SID	0,24	0,24	0,24	0,24
Treonina	0,86	0,86	0,86	0,86
Treonina SID	0,77	0,77	0,77	0,77
Valina	0,81	0,81	0,81	0,80
Valina SID	0,70	0,70	0,70	0,69
Isoleucina	0,69	0,69	0,70	0,69
Isoleucina SID	0,60	0,60	0,60	0,60
Arginina SID	0,95	0,94	0,95	0,94
Grasa	5,67	5,77	5,78	5,76
Oleico	2,06	2,07	2,07	2,07
Linoleico	1,12	1,11	1,12	1,11
Palmítico	1,25	1,24	1,25	1,24
Esteárico	0,60	0,61	0,61	0,61
Saturados/insaturados	0,30	0,29	0,29	0,29
Fibra bruta	3,61	3,58	3,61	3,57
Fibra ácido detergente	4,91	4,88	4,91	4,86
Fibra neutro detergente	11,94	11,87	11,96	11,82
Almidón	38,24	38,07	38,34	37,92
Cenizas	6,17	5,78	5,80	5,78

¹¹SID: digestible estandarizada.

⁵Basado en valores de ingredientes para nutrición animal FEDNA, (2010).

6.2.4. Análisis.

La composición de las dietas fue analizada para humedad por secado en estufa (930.15), cenizas por incineración (942.05), proteína por el método Kjeldahl (984.13), el extracto etéreo por análisis de grasa Soxhlet (920.39), como se describe en el AOAC (International, 2012, 19th ed.), el almidón por el método polarimétrico y la fibra bruta por el método Weende.

Los resultados analíticos de las dietas se muestran en la tabla 6.2.4.1.

Tabla 6.2.4.1. Análisis nutricional de las dietas experimentales (medias de dos análisis). (C: Dieta control basada en una mezcla de ácidos orgánicos, mono, di y triglicéridos de ácidos orgánicos y aceites esenciales; OC: Dieta control más una mezcla de fibra insoluble basada en lignocelulosa; A: Dieta control más una mezcla basada en mono, di y triglicéridos de ácido butírico; B: Dieta control más una mezcla basada en mono, di y triglicéridos de ácido mirístico y ácido láurico).

Análisis, %	C	OC	A	B
Almidón	39,29	38,65	39,58	38,95
Cenizas	5,41	5,72	5,56	5,87
Fibra bruta	4,15	3,98	4,29	3,81
Grasa bruta	5,35	5,42	5,70	5,69
Materia seca	89,68	90,01	90,63	90,54
Proteína bruta	17,69	17,74	18,08	18,06

6.2.5. Instalaciones experimentales.

Las instalaciones experimentales estuvieron situadas en Navas de Arévalo, Ávila. Los animales experimentales se alojaron al azar en 16 réplicas con se indica en el gráfico 1.2.4.1. Cada cuadra medía 7,4m² útiles (densidad: 0,25 m²/cerdo hasta 20kg). La nave poseía un sistema de iluminación natural (ventanas a ambos lados) y artificial no programable. Las cuadras tenían suelo de hormigón con rejilla y el sistema de ventilación se regulaba mediante ventiladores conectados a un sensor de temperatura. La temperatura se ajustó semanalmente de acuerdo con la edad de los animales. Las dietas y el agua se ofrecieron *ad libitum* mediante un comedero de hormigón contolva (93x33cm²) de 4 bocas (14cm de diámetro), una tolva holandesa que solo es utilizada en caso de emergencia, y un bebedero de cazoleta situados en el interior de cada cuadra.

6.2.6. Parámetros analizados y cálculo de parámetros.

Se tomó el peso de los animales al inicio de la prueba para equilibrar los tratamientos, al cambio de dieta de prestarter a starter, 8 días post destete (50d de vida), a los 22d post destete (63d de vida) y a los 35d post destete (76d de vida). Se anotaron las bajas y los animales retirados con su causa, su fecha y su peso. Con los incrementos de peso por réplica se calculó la ganancia media diaria. El consumo de pienso por réplica se controló en los controles de peso efectuados, y con ello se calculó el consumo medio diario por réplica. El índice de transformación por réplica se calculó como el cociente entre el consumo medio de alimento y la ganancia de peso medio por réplica.

6.2.7. Análisis estadístico.

Los datos fueron analizados mediante un análisis de varianza por el procedimiento lineal. El modelo incluyó el peso inicial como covariable, y el tratamiento experimental. Los datos se expresan por medias corregidas por mínimos cuadrados, y se realizó una comparación de medias corregidas por Bonferroni.

$$Y_{ij} = \text{Peso}_{0j} + \text{Tratamiento}_i + \varepsilon_{ij}$$

Los datos de mortalidad se analizaron como variables no continuas, mediante una prueba χ^2 y se expresan como el porcentaje de animales fallecidos o retirados de prueba por tratamiento.

6.3. Resultados.

6.3.1. Productividad.

Los lechones se destetaron con 28 días de vida. Tras comer el pienso prestarter común, los lechones alcanzaron un peso de $7,34 \pm 0,70$ kg con medias de 7,41, 7,35, 7,30 y 7,34kg para C, OC, A y B, respectivamente.

El efecto del tratamiento sobre el peso se muestra en la Tabla 6.3.1.1. No hubo diferencias significativas en el peso entre los tratamientos a 50d (13,56, 13,11, 13,62 y 13,19kg para C, OC, A y B, respectivamente, $P > 0,05$), a 63d (20,93, 19,91, 21,18 y 20,26kg para C, OC, A y B, respectivamente, $P > 0,05$); y a 76d (29,02, 27,64, 28,79 y 28,44kg para C, OC, A y B, respectivamente, $P > 0,05$).

Tabla 6.3.1.1. Efecto del tratamiento sobre el peso a los 50,63 y 76d de vida. (C: Dieta control basada en una mezcla de ácidos orgánicos, mono, di y triglicéridos de ácidos orgánicos y aceites esenciales; OC: Dieta control más una mezcla de fibra insoluble basada en lignocelulosa; A: Dieta control más una mezcla basada en mono, di y triglicéridos de ácido butírico; B: Dieta control más una mezcla basada en mono, di y triglicéridos de ácido mirístico y ácido láurico).

Tratamiento	PESO 50d	PESO 63d	PESO 76d
C	13,56	20,93	29,02
OC	13,11	19,91	27,64
A	13,62	21,18	28,79
B	13,19	20,26	28,44
EEM ¹ (n=4)	0,245	0,928	0,545
Peso 35d	<0,001	0,126	<0,001
Tratamiento	0,389	0,760	0,346

*Medias con distinto superíndice son distintos.

¹EEM. Error Estándar de la media

El efecto del tratamiento sobre la productividad entre 35 y 50d de vida se muestra en la Tabla 6.3.1.2. No hubo diferencias significativas entre tratamientos para el crecimiento (283, 262, 286 y 266 g/d para C, OC, A y B, respectivamente, $P > 0,05$). Tampoco hubo diferencias significativas en el consumo de alimento entre los tratamientos (274, 260, 278 y 270 g/d para C, OC, A y B, respectivamente, $P > 0,05$), ni para el índice de transformación (1,03, 1,01, 1,03 y 1,00 g/g para C, OC, A y B, respectivamente, $P > 0,05$).

Tabla 6.3.1.2. Efecto del tratamiento sobre el crecimiento, el consumo de pienso e índice de transformación entre 35 y 50d de vida (C: Dieta control basada en una mezcla de ácidos orgánicos, mono, di y triglicéridos de ácidos orgánicos y aceites esenciales; OC: Dieta control más una mezcla de fibra insoluble basada en lignocelulosa; A: Dieta control más una mezcla basada en mono, di y triglicéridos de ácido butírico; B: Dieta control más una mezcla basada en mono, di y triglicéridos de ácido mirístico y ácido láurico).

Tratamiento	Crecimiento g/d	Consumo de pienso g/d	Índice transformación g/g
C	283	274	1,03
OC	262	260	1,01
A	286	278	1,03
B	266	270	1,00
EEM ¹ (n=4)	11	6	0,031
Peso 35d	0,019	<0,001	0,958
Tratamiento	0,389	0,250	0,733

*Medias con distinto superíndice son distintos.

¹EEM. Error Estándar de la media

El efecto del tratamiento sobre la productividad entre 50 y 63d de vida se muestra en la Tabla 6.3.1.3. No hubo diferencias significativas ni para el crecimiento (614, 567, 629 y 589 g/d para C, OC, A y B, respectivamente, P>0,05), ni para el consumo de alimento (412, 436, 425 y 428 g/d para C, OC, A y B, respectivamente, P>0,05), ni para el índice de transformación (1,50, 1,29, 1,48 y 1,38 g/g para C, OC, A y B, respectivamente, P>0,05).

Tabla 6.3.1.3. Efecto del tratamiento sobre el crecimiento, el consumo de alimento e índice de transformación entre 50 y 63d de vida (C: Dieta control basada en una mezcla de ácidos orgánicos, mono, di y triglicéridos de ácidos orgánicos y aceites esenciales; OC: Dieta control más una mezcla de fibra insoluble basada en lignocelulosa; A: Dieta control más una mezcla basada en mono, di y triglicéridos de ácido butírico; B: Dieta control más una mezcla basada en mono, di y triglicéridos de ácido mirístico y ácido láurico).

Tratamiento	Crecimiento g/d	Consumo de pienso g/d	Índice transformación g/g
C	614	412	1,50
OC	567	436	1,29
A	629	425	1,48
B	589	428	1,38
EEM ¹ (n=4)	68	19	0,147
Peso 35d	0,482	0,015	0,638
Tratamiento	0,919	0,858	0,731

*Medias con distinto superíndice son distintos.

¹EEM. Error Estándar de la media

El efecto del tratamiento sobre la productividad para el conjunto del ensayo (entre 63 y 76d) de vida se muestra en la Tabla 6.3.1.4. No hubo diferencias significativas del tratamiento sobre el crecimiento (674, 644, 635 y 681 g/d para C, OC, A y B, respectivamente, P>0,05). Tampoco hubo diferencias significativas para el consumo de pienso (618, 651, 604 y 660 g/d para C, OC, A y B,

respectivamente, $P>0,05$) ni para el índice de transformación (1,09, 1,01, 1,05 y 1,03 g/g para C, OC, A y B, respectivamente, $P>0,05$).

Tabla 6.3.1.4. Efecto del tratamiento sobre el crecimiento, el consumo de pienso e índice de transformación entre 63 y 76d de vida (C: Dieta control basada en una mezcla de ácidos orgánicos, mono, di y triglicéridos de ácidos orgánicos y aceites esenciales; OC: Dieta control más una mezcla de fibra insoluble basada en lignocelulosa; A: Dieta control más una mezcla basada en mono, di y triglicéridos de ácido butírico; B: Dieta control más una mezcla basada en mono, di y triglicéridos de ácido mirístico y ácido láurico).

Tratamiento	Crecimiento g/d	Consumo de pienso g/d	Índice transformación g/g
C	674	618	1,09
OC	644	651	1,01
A	635	604	1,05
B	681	660	1,03
EEM ¹ (n=4)	55	66	0,034
Peso 35d	0,197	0,006	0,993
Tratamiento	0,914	0,919	0,411

*Medias con distinto superíndice son distintos.

¹EEM. Error Estándar de la media

El efecto del tratamiento sobre la productividad para el conjunto del ensayo (entre 35 y 76d) de vida se muestra en la Tabla 6.3.1.5. De nuevo, no hubo diferencias significativas en crecimiento entre los lechones de los cuatro tratamientos (867, 812, 858 y 844 g/d para C, OC, A y B, respectivamente, $P>0,05$), ni en el consumo de pienso (951, 914, 940 y 927 g/d para C, OC, A y B, respectivamente, $P>0,05$), ni en el índice de transformación (0,91, 0,89, 0,91 y 0,91 g/g para C, OC, A y B, $P>0,05$).

Tabla 6.3.1.5. Efecto del tratamiento sobre el crecimiento, el consumo de pienso e índice de transformación entre 35 y 76d de vida. (C: Dieta control basada en una mezcla de ácidos orgánicos, mono, di y triglicéridos de ácidos orgánicos y aceites esenciales; OC: Dieta control más una mezcla de fibra insoluble basada en lignocelulosa; A: Dieta control más una mezcla basada en mono, di y triglicéridos de ácido butírico; B: Dieta control más una mezcla basada en mono, di y triglicéridos de ácido mirístico y ácido láurico).

Tratamiento	Crecimiento g/d	Consumo de pienso g/d	Índice transformación g/g
C	867	951	0,91
OC	812	914	0,89
A	858	940	0,91
B	844	927	0,91
EEM (n=4)	22	26	0,08
Peso 35d	0,002	0,002	0,191
TTO	0,346	0,775	0,223

*Medias con distinto superíndice son distintos.

¹EEM. Error Estándar de la media.

6.3.2. Mortalidad y retirados de la prueba.

Antes del inicio de las dietas experimentales, entre 28 y 35d de vida, hubo una baja perteneciente al grupo de animales que consumieron la dieta C, otra perteneciente al grupo de animales que consumieron la dieta OC y se retiró un lechón del grupo que consumieron B, que no se han tenido en cuenta para el análisis. Asimismo, el primer día de ensayo y a los 12 días de este, ante algunos síntomas de meningitis, se decidió tratar a todos los animales con amoxicilina (Paracilin, MSD Animal Health, 400g/1.000 l agua, 5d), y a los 20 días y ante la aparición de heces blandas generalizadas y se trató con FORCYL SWINE (Marbofloxacino, 1ml 1 día).

No hubo un efecto del tratamiento sobre el total de animales que causaron baja por una u otra razón, 1,7, 0,9, 1,0 y 0,8 % para C, OC, A y B, respectivamente, P=0,398).

Tabla 6.3.2.1. Efecto del tratamiento sobre la mortalidad. (C: Dieta control basada en una mezcla de ácidos orgánicos, mono, di y triglicéridos de ácidos orgánicos y aceites esenciales; OC: Dieta control más una mezcla de fibra insoluble basada en lignocelulosa; A: Dieta control más una mezcla basada en mono, di y triglicéridos de ácido butírico; B: Dieta control más una mezcla basada en mono, di y triglicéridos de ácido mirístico y ácido láurico).

Tratamiento	Mortalidad (%)
C	1,7
OC	0,9
A	1,0
B	0,8
P	0,398

*Medias con distinto superíndice son distintos.

6.4. Discusión.

En el presente ensayo, los lechones que fueron alimentados con C tuvieron pesos similares a los lechones que tomaron los otros 3 tratamientos OC, A y B sin presentar diferencias significativas en el peso entre los tratamientos, ni a 50 d, ni a 63 d ni a 76 d.

En cuanto a los parámetros productivos, no se observan diferencias significativas entre ninguno de los 4 tratamientos C, OC, A y B, en el crecimiento, en el consumo ni en el índice de transformación en ninguno de los 3 periodos (35-50 d, 50-63 d, 63-76 d), ni en el periodo global (35-76 d).

Es importante destacar la baja mortalidad que hubo en la prueba, aunque también debemos tener en cuenta la medicación que se dio de forma puntual a todos los animales tras la aparición de signos de meningitis y de heces blandas.

Los resultados reafirman los obtenidos en los estudios de Skřivanová et al., (2009) y Yoon et al., (2018) ya que observaron que una mezcla de ácidos orgánicos y mono, di y triglicéridos de ácidos orgánicos mejoraban la salud intestinal evitando el riesgo de aparición de diarrea los primeros días tras el destete, por un posible control de bacterias Gram positivas y Gram negativas (Bergsson et al., 2001; Yoon et al., 2018). Además, los aceites esenciales junto con los ácidos orgánicos y mono, di y triglicéridos de ácidos orgánicos han demostrado ser una buena alternativa al uso del óxido de zinc ya que los lechones han presentado una buena productividad. Los AE tienen un efecto bactericida que dañan la superficie de la membrana de bacterias patógenas inhibiendo su actividad (Valenzuela-Grijalva et al., 2017; Yang et al., 2019).

Las bacterias intestinales pueden producir ácidos orgánicos al fermentar la fibra insoluble presente en la dieta y, por tanto, mejorar la función inmunológica y salud intestinal del lechón (Jha y Berrocoso, 2016). Sin embargo, no se ha podido observar una mejoría adicional en la salud y productividad de los lechones con la adición de fibra insoluble en la dieta las primeras semanas tras el destete.

Según explican Kitahara et al., (2004) la monolaurina y los ésteres de ácido mirístico (Altiera et al., 2009) tienen potentes efectos antibacterianos, demuestra mayor potencia (más efectivo a menor concentración), aunque contra un espectro más reducido de bacterias susceptibles, pero en el presente ensayo no se ha observado un efecto positivo adicional. Según explican Zhang et al., (2020) en su estudio, la tributirina mostró eficacia para modificar la profundidad de las criptas y las vellosidades intestinales mejorando así la salud digestiva de los lechones, sin embargo, en el presente ensayo no se ha visto una mejora adicional por la adición de tributirina en la dieta control.

Es posible que la baja mortalidad y los buenos resultados hayan impedido ver el efecto adicional de la adición de dichos aditivos y materias primas, a una dieta control suplementada con una mezcla de ácidos orgánicos, mono, di y triglicéridos de ácidos orgánicos y aceites esenciales.

Se concluye que bajo las condiciones en las que se realizaron este ensayo, no se han observado mejoras adicionales en productividad por la adición de fibra, de ésteres de ácido butírico o de ésteres de ácido láurico y ácido mirístico a la dieta control con ácidos orgánicos, mono, di y triglicéridos de ácidos orgánicos y aceites esenciales. Por tanto, podemos afirmar que la mezcla de ácidos orgánicos, mono, di y triglicéridos de ácidos orgánicos y aceites esenciales pueden ser una alternativa al uso del óxido de zinc en la dieta de los lechones las primeras semanas tras el destete, sin que se haya observado beneficios ni perjuicios adicionales por la adición de fibra insoluble, ésteres de ácido butírico y ésteres de ácido láurico y ácido mirístico.

6.5. Bibliografía

- Alteri, C., Bevilacqua, A., Cardillo, D., Sinigaglia, M., 2009. Effectiveness of fatty acids and their monoglycerides against gram-negative pathogens. *Int. J. Food Sci. Technol.* 44, 359-366. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2008.01744.x>.
- Bailey, M., Haverson, K., Inman, C., Harris, C., Jones, P., Corfield, G., Miller, B., Stokes, C., 2005. The development of the mucosal immune system pre- and post-weaning: balancing regulatory and effector function. *Proc. Nutr. Soc.* 64, 451-457. <https://doi.org/10.1079/PNS2005452>.
- Bergsson, G., Arnfinnsson, J., Steingrímsson, O., Thormar, H., 2001. In vitro killing of *Candida albicans* by fatty acids and monoglycerides. *Antimicrob. Agents Chemother.* 45, 3209-3212. <https://doi.org/10.1128/AAC.45.11.3209-3212.2001>.
- Canfora, E.E., Jocken, J.W., Blaak, E., 2015. Short-chain fatty acids in control of body weight and insulin sensitivity. *Nat. Rev. Endocrinol.* 11, 577-591. <https://doi.org/10.1038/nrendo.2015.128>.
- Den Besten, G., van Eunen, K., Groen, A.K., Venema, K., Reijngoud, D-J., Bakker, B.M., 2013. The role of short-chain fatty acids in the interplay between diet, gut microbiota, and host energy metabolism. *J. Lipid. Res.* 54, 2325-2340. <https://doi.org/10.1194/jlr.R036012>.
- Diao, H., Zheng, P., Yu, B., He, J., Mao, X.B., Yu, J., Chen, D.W., 2014. Effects of dietary supplementation with benzoic acid on intestinal morphological structure and microflora in weaned piglets. *Livest. Sci.* 167, 249-256. <https://doi.org/10.1016/j.livsci.2014.05.029>.
- Dubreuil, J.D., 2017. Enterotoxigenic *Escherichia coli* and probiotics in swine: what the bleep do we know? *Biosci. Microbiota Food Health* 36, 75-90. <https://doi.org/10.12938/bmfh.16-030>.
- Ferronato, G., Prandini, A., 2020. Dietary supplementation of inorganic, organic and fatty acids in pig: a review. *Animals* 10, 1740. <https://doi.org/10.3390/ani10101740>.
- Goodband, B., DeRouchey, J., Tokach, M., Dritz, S., Nelssen, J., 2006. Strategies for feeding weaned pigs. *Proc. London Swine Conf.*
- Hijova, E., Chmelarova, A., 2007. Short chain fatty acids and colonic health. *Bratisl. Lek. List.* 108, 354-358.

- Jackman, J. A., Boyd, R. D., Elrod, C. C., 2020. Medium-chain fatty acids and monoglycerides as feed additives for pig production: Towards gut health improvement and feed pathogen mitigation. *J. Anim. Sci. Biotechnol.* 11, 44. <https://doi.org/10.1186/s40104-020-00446-1>.
- Jha, R., Berreco, J.F.D., 2016. Dietary fiber and protein fermentation in the intestine of swine and their interactive effects on gut health on the environment: A review. *Anim Feed Sci. Technol.* 212, 18-26. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2015.12.002>.
- Jha, R., Fouhse, J.M., Tiwari, U.P., Li, L., Willing, B.P., 2019. Dietary fiber and intestinal health of monogastric animals. *Front. Vet. Sci.* 6, 48. <https://doi.org/10.3389/fvets.2019.00048>.
- Kitahara, T., Koyama, N., Matsuda, J., Aoyama, Y., Hirikata, Y., Kamihita, S., Kohno, S., Nakashima, M., Sasaki, H., 2004. Antimicrobial activity of saturated fatty acids and fatty amines against methicillin resistant *Syaphylococcus aureus*. *Bio. Pharm. Bull.* 27, 1321-1326. <https://doi.org/10.1248/bpb.27.1321>.
- Laine, T.M., Lyytikäinen, T., Yliaho, M., Anttila, M., 2008. Risk factors for post-weaning diarrhoea on piglet producing farms in Finland. *Acta Vet. Scand.* 50, 21. <https://doi.org/10.1186/1751-0147-50-21>.
- Lallés, J.P., Boudry, G., Favier, C., Le Floc'h, N., Luron, I., Montagne, L., Oswald, I.P., Pié, S., Piel, C., Sève, B., 2004. Gut function and dysfunction in young pigs: physiology. *Anim. Res.* 53, 301-316. <https://doi.org/10.1051/animres:2004018>.
- Le Dividich, J., Sève, B., 2000. Energy requirement of the young piglet. Chapter 2 In: Wiseman, J., (Ed.), *The Weaner Pig*. CAB International, Oxford, in press.
- Ma, J., Long, S., Wang, J., Gao, J., Piao, X., 2022. Microencapsulated essential oils combined with organic acids improves immune antioxidant capacity and intestinal barrier function as well as modulates the hindgut microbial community in piglets. *J. Anim. Sci. Biotechnol.* 13, 16. <https://doi.org/10.1186/s40104-021-00670-3>.
- Mallo, J.J., Balfagón, A., Gracias, M.I., Honrubia, P., Puyalto, M., 2012. Evaluation of different protections of butyric acid aiming for release in the last part of the gastrointestinal tract of piglets. *J. Anim. Sci.* 90, 227-229. <https://doi:10.2527/jas53959>.

- Mateos, G.G., Kadardar, H., Dardabou, L., Fernández, A., Luna, N., Aguirre, L., 2021. Estrategias nutricionales para la prevención y control de procesos digestivos en lechones postdestete en ausencia de óxido de zinc en el pienso (I). *Suis*, 178.
- McCracken, B.A., Spurlock, M.E., Roos, M.A., Zuckermann, F.A., Gaskins, H.R., 1999. Weaning anorexia may contribute to local inflammation in the piglet small intestine. *J. Nutr.*, 129, 613-619. <https://doi.org/10.1093/jn/129.3.613>.
- Morel, P.C.H., Chidgey, K.L., Jenkinson, C.M.C., Lizarraga, I., Shreurs, N.M., 2019. Effect of benzoic acid, sodium butyrate and sodium butyrate coated with benzoic acid on growth performance, digestibility, intestinal morphology and meat quality in grower-finisher pigs. *Livest. Sci.* 226, 107-113. <https://doi.org/10.1016/j.livsci.2019.06.009>.
- Mroczek, I., Frankiewicz, A., Selwet, M., 2005. The effect of acidifying additives on the microbiological stability of feed mixtures. *J. Anim. Feed Sci.* 14, 385-388. <https://doi.org/10.22358/jafs/70586/2005>.
- Nhung, N., Cuong, N., Thwaites, G., Carrique-Mas, J., 2016. Antimicrobial usage and antimicrobial resistance in animal production in Southeast Asia: a review. *Antibiotics* 5, 37. <https://doi.org/10.3390/antibiotics5040037>.
- Nowak, P., Zaworska-Zakrzewska, A., Frankiewicz, A., Kasproicz-Potocka, M., 2021. The effects and mechanisms of acids on the health of piglets and weaners – a review. *Ann. Anim. Sci.* 21, 433-455. <https://doi.org/10.2478/aoas-2020-0088>.
- Omonijo, F.A., Ni, L., Gong, J., Wang, Q., Lahaye, L., Yang, C., 2018. Essential oils as alternatives to antibiotics in swine production. *Anim. Nutr.* 4, 126-136. <https://doi.org/10.1016/j.aninu.2017.09.001>.
- Ou, D., Li, D., Cao, Y., Li, X., Yin, J., Qiao, A., Wu, G., 2007. Dietary supplementation with zinc oxide decreases expression of the stem cell factor in the small intestine of weanling pigs. *J. Nutr. Biochem.*, 18, 820-826. <https://doi.org/10.1016/j.jnutbio.2006.12.022>.
- Phillips, F.C., Rubach, J.K., Poss, M.J., Anam, S., Goyal, S.M., Dee, S.A., 2021. Monoglyceride reduces viability of porcine epidemic diarrhoea virus in feed and prevents disease transmission to post-weaned piglets. *Transbound. Emerg. Dis.* 69, 121-127. <https://doi.org/10.1111/tbed.14353>.

- Pluske, J. R., Pethick, D. W., Hopwood, D. E., Hampson, D. J., 2002. Nutritional influences on some major enteric bacterial diseases of pig. *Nutr. Res. Rev.* 15, 333-371. <https://doi.org/10.1079/nrr200242>.
- Pluske, J.R., Turpin, D.L., Kim, J.C., 2018. Gastrointestinal tract (gut) health in the young pig. *Anim. Nutr.* 4, 187-196. <https://doi.org/10.1016/j.aninu.2017.12.004>.
- Poulsen, H.D., 1995. Zinc oxide for weanling piglets. *Acta Agric. Scand. Sect. A* 45, 3. <https://doi.org/10.1080/09064709509415847>.
- Rebello, C.J., O'Neil, C.E., Greenway, F.L., 2016. Dietary fiber and satiety: the effects of oats on satiety. *Nutr. Rev.* 74, 131-147. <https://doi.org/doi:10.1093/nutrit/nuv063>.
- Regulation (EC) N° 1831/2003, of the European Parliament and of the Council of 22 September 2003 on additives for use in animal nutrition. OJ L 268, 2003, 29–43, 18.10.
- Schedle, K., Plitzner, C., Ettle, T., Zhao, L., Doming, K.J., Windisch, W., 2008. Effects of insoluble dietary fiber differing in lignin on performance, gut microbiology, and digestibility in weanling piglets. *Arch. Anim. Nutr.* 62, 141-151. <https://doi.org/10.1080/17450390801892617>.
- Shen, J., Chen, Y., Wang, Z., Zhou, A., He, M., Mao, L., Zou, H., Peng, Q., Xue, B., Wang, L., Zhang, X., Wu, S., Lv, Y., 2014. Coated zinc oxide improves intestinal immunity function and regulates microbiota composition in weaned piglets. *Br. J. Nutr.* 111, 2123-2134. <https://doi.org/10.1017/S0007114514000300>.
- Sikkema, J., De Bont, J.A., Poolman, B., 1994. Interactions of cyclic hydrocarbons with biological membranes. *J. Biol. Chem.* 269, 8022-8028. [https://doi.org/10.1016/S0021-9258\(17\)37154-5](https://doi.org/10.1016/S0021-9258(17)37154-5).
- Skřivanová, E., Molatová, Z., Skřivanová, V., Marounek, M., 2009. Inhibitory activity of rabbit milk and medium-chain fatty acids against enteropathogenic *Escherichia coli* O128. *Vet. Microbiol.* 135, 358-362. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2008.09.083>.
- Spreeuwenberg, M.A.M., Verdonk, J.M., Gaskins, H.R., Verstegen, M.W., 2001. Small intestine epithelial barrier function is compromised in pigs with low feed intake at weaning. *J. Nutr.* 131, 1520–1527. <https://doi.org/10.1093/jn/131.5.1520>.

- Sotira, S., Dell'Anno, M., Caprarulo, V., Hejna, M., Pirrone, F., Callegari, M.L., Tucci, T.V., Rossi, L., 2020. Effects of tributyrin supplementation on growth performance, insulin, blood metabolites and gut microbiota in weaned piglets. *Animals*, 10, 726. <https://doi.org/10.3390/ani10040726>.
- Suiryanrayna M., Ramana, J. V., 2015. A review of the effects of dietary organic acids fed to swine. *J. Anim. Sci. Biotechnol.* 6, 45. <https://doi.org/10.1186/s40104-015-0042-z>.
- Sun, X., Cui, Y., Su, Y., Gao, Z., Diao, X., Li, D., Zhu, X., Li, D., Li, Z., Wang, C., Shi, Y., 2021. Dietary fiber ameliorates lipopolysaccharide-induced intestinal barrier function damage in piglets by modulation of intestinal microbiome. *A.S.M.* 6, 2. <https://doi.org/10.1128/mSystems.01374-20>.
- Thacker, P.A., 2013. Alternatives to antibiotics as growth promoters for use in swine production: a review. *J. Anim. Sci. Biotechnol.* 4, 35. <https://doi.org/10.1186/2049-1891-4-35>.
- Torrallardona, D., Badiola, I., Broz, J., 2007. Effects of benzoic acid on performance and ecology of gastrointestinal microbiota in weanling piglets. *Livest. Sci.* 108, 210-213. <https://doi.org/10.1016/j.livsci.2007.01.062>.
- Valle-González, E.R., Jackman, J.A., Yoon, B.K., Park, S., Sut, T.N., Cho, N.J., 2018. Characterizing how acid pH conditions affect the membrane-disruptive activities of lauric acid and glycerol monolaurate. *Langmuir* 34, <https://doi.org/10.1021/acs.langmuir.8b02536>.
- Vaara, M., 1992. Agents that increase the permeability of the outer membrane. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* 56, 395-411. <https://doi.org/10.1128/mr.56.3.395-411.1992>.
- Valenzuela-Grijalva, N. V., Pinelli-Saavedra, A., Muhlia-Almazan, A., Domínguez-Díaz, D., González-Ríos, H., 2017. Dietary inclusion effects of phytochemicals as growth promoters in animal production. *J. Anim. Sci. Technol.* 59, 8. <https://doi.org/10.1186/s40781-017-0133-9>.
- Walia, K., Argüello, H., Lynch, H., Leonard, F.C., Grant, J., Yearsley, D., Kelly, S., Duffy, G., Gardiner, G.E., Lawlor, P.G., 2017. Effect of strategic administration of an encapsulated blend of formic acid, citric acid, and essential oils on *Salmonella* carriage, seroprevalence, and growth of finishing pigs. *Prev. Vet. Med.* 137, 28-35. <http://dx.doi.org/10.1016/j.prevetmed.2016.12.007>.

- Wu, X., Chen, D., Yu, B., Luo, Y., Zheng, P., Mao, X., Yu, J., He, J., 2018. Effect of different dietary non-starch fiber fractions on growth performance, nutrient digestibility, and intestinal development in weaned pigs. *Nutrition* 51-52, 20-28. <https://doi.org/10.1016/j.nut.2018.01.011>.
- Xu, Y.T., Liu, L., Long, S.F., Pan, L., Piao, X.S., 2017. Effect of organic acids and essential oils on performance, intestinal health and digestive enzyme activities of weaned pigs. *Anim. Feed Sci. Technol.* 235, 110-119.
- Xu, Y., Lahaye, L., He, Z., Zhang, J., Yang, C., Piao, X., 2020. Micro-encapsulated essential oils and organic acids combination improves intestinal barrier function, inflammatory responses and microbiota of weaned piglets challenged with enterotoxigenic *Escherichia coli* F4 (K88⁺). *Anim. Nutr.* 6, 269-277. <https://doi.org/10.1016/j.aninu.2020.04.004>.
- Yang, C., Zhang, L., Cao, G., Feng, J., Yue, M., Xu, Y., Dai, B., Han, Q., Guo, X., 2019. Effects of dietary supplementation with essential oils and organic acids on the growth performance, immune system, fecal volatile fatty acids and microflora community in weaned piglets. *J. Anim. Sci.* 97, 133-143. <https://doi.org/10.1093/jas/sky426>.
- Yoon, B.K., Jackman, J.A., Valle-González, E. R., & Cho, N. J., 2018. Antibacterial free fatty acids and monoglycerides: Biological activities, experimental testing, and therapeutic applications. *Int. J. Mol. Sci.* 19, 1114. <https://doi.org/10.3390/ijms19041114>.
- Zhang, B., Guo, Y., 2009. Supplemental zinc reduced intestinal permeability by enhancing occludin and zonula occludens protein-1 (ZO-1) expression in weaning piglets. *Br. J. Nutr.* 102, 687–693. <https://doi.org/10.1017/S0007114509289033>.
- Zhang, W.X., Zhang, Y., Zhang, X.W., Deng, Z.X., Liu, J.X., He, M.L., Wang, H.F., 2020. Effects of dietary supplementation with combination of tributyrin and essential oil on gut health and microbiota of weaned piglets. *Animals* 10, 180. <https://doi.org/10.3390/ani10020180>.

CAPÍTULO 7. DISCUSIÓN FINAL Y CONCLUSIONES.

7.1. Discusión final.

En las pruebas realizadas en la presente tesis doctoral hay que destacar que en dietas suplementadas con algunos aditivos y materias primas se han obtenido resultados productivos similares a los obtenidos con la adición de óxido de zinc a dosis farmacológicas. Además, se ha conseguido evitar la aparición de la diarrea post destete. Es importante destacar que las estrategias nutricionales tienen que ir acompañadas de buenas prácticas de manejo e higiene junto con unas buenas condiciones sanitarias de los animales para evitar la proliferación de bacterias patógenas.

Tal y como se ha comentado a lo largo de la tesis doctoral, uno de los puntos más críticos del destete es el cambio de alimentación (de leche a pienso) ya que el estrés y el desconocimiento de un alimento nuevo hace que el lechón pase unas horas sin comer. Se producen cambios en el tracto gastrointestinal dejando un sistema inmune débil, lo que permite la proliferación de bacterias patógenas facilitando la aparición de diarrea post destete. Se ha observado que una ingesta óptima de alimento horas posteriores al destete disminuye el riesgo de diarrea post destete.

Los monoglicéridos actúan a nivel de membrana celular (Yoon et al., 2017) y no a nivel intracelular como los ácidos orgánicos (Mani-López et al., 2012). Esto explicaría el escaso efecto observado en el caso de los monoglicéridos de ácidos de cadenas más cortas frente a las bacterias Gram positivas. Este menor efecto se debe posiblemente a la baja afinidad de los mismos por los fosfolípidos de la membrana celular de las bacterias Gram positivas. En el caso de la combinación de monoglicéridos se ha observado un efecto negativo sobre el crecimiento de bacterias tanto Gram positivas como Gram negativas, tal y como indicaron Altieri et al., (2009) que especularon que la permeabilidad de la membrana celular se podía ver más afectada por una combinación de monoglicéridos. En el caso de los aceites esenciales (cinamaldehído y carvacrol) se ha observado un efecto negativo sobre el crecimiento de las bacterias tanto Gram positivas como Gram negativas, al igual que observaron otros autores (Walia et al., 2017; Preuss et al., 2019 Xu et al., 2020; López-Gálvez et al., 2021, Ramos da Silva et al., 2021 y Neath et al., 2022). El efecto de los aceites esenciales sobre las bacterias patógenas está relacionado con el daño en la estructura celular de la bacteria, alterando los lipopolisacáridos que forman la membrana celular (Vaara, 1192; Sikkema et al., 1994).

No se observaron diferencias significativas en el rendimiento productivo y la salud intestinal entre las dietas suplementadas con una mezcla de ácidos orgánicos,

monoglicéridos de ácidos orgánicos y aceites esenciales o con dosis farmacológicas de óxido de zinc, por tanto, dicha mezcla presenta un efecto beneficioso sobre la salud de los lechones en edades tempranas. Estos resultados corroboran los obtenidos por Skřivanová et al., (2009) donde observaron el efecto positivo de los ácidos orgánicos sobre la salud intestinal de los lechones durante las primeras semanas posteriores al destete. Además, tal y como explica Mroczek et al. (2005) los ácidos orgánicos pueden reducir la cantidad de microorganismos patógenos en el pienso y refuerza la barrera de pH del estómago, ya que reducen el pH de la dieta manteniendo el equilibrio en la microflora gastrointestinal. Por otro lado, la actividad de los monoglicéridos, al no depender del pH, prolonga su efecto a lo largo de todo el sistema digestivo (Gabert y Sauer, 1994). Por otro lado, el efecto de los ésteres de ácido mirístico se puede explicar con los resultados obtenidos por (Skřivanova et al., 2005) donde observaron la vulnerabilidad de *Clostridium perfringens* a la adición de ácido mirístico. Además, como explican Aviles-Rosa et al., (2020) el ácido mirístico puede ayudar a los lechones a sentirse más atraídos por el comedero, sin embargo, no se han observado diferencias significativas en el consumo de pienso con respecto a los animales que fueron alimentados con dietas suplementadas con óxido de zinc.

Se observó que la reducción de proteína bruta en la dieta no tuvo un efecto beneficioso sobre la productividad de los lechones, lo que contrasta con lo observado por Wu et al., (2015) indicando que la bajada de la proteína bruta en la dieta tiene un efecto positivo en la incidencia de diarrea post destete y mantiene la salud intestinal del lechón. Sin embargo, corroboran los resultados observados por Yu et al., (2019) donde explicaron que las dietas bajas en proteína bruta pueden dar como resultado la alteración de la morfología intestinal a través de la inhibición del crecimiento de células madre intestinales. Probablemente la deficiencia de algún aminoácido esencial, como isoleucina o arginina expliquen dichos resultados. Para futuros estudios hay que tener en cuenta la posible limitación de un mayor número de aminoácidos.

Los aceites esenciales han demostrado tener un efecto beneficioso adicional sobre la salud de los lechones en dietas suplementadas con ácidos orgánicos y monoglicéridos de ácidos orgánicos las primeras semanas posteriores al destete y tal y como explican varios autores (Valenzuela-Grijalva et al., 2017; Xu et al., 2020).

Los animales que fueron suplementados con ácidos húmicos presentaron problemas digestivos durante las primeras semanas de ensayo y los lechones tuvieron que ser medicados. Estos resultados contrastan con los obtenidos en el estudio de Trckova et al.,

(2017) donde observaron que los ácidos húmicos tienen un efecto beneficioso sobre el intestino de los lechones las primeras semanas posteriores al destete ya que previene de una pérdida excesiva de agua lo que disminuye mucho el riesgo de aparición de diarrea post destete. Se observó un aumento en el peso entre los 51 y los 65d de los animales suplementados con ácidos húmicos. Dicho aumento de peso pudo ser debido, a la mejora de la absorción de nutrientes y aumento de la digestibilidad sobre todo de proteínas (Trckova et al., 2017). Además, tal y como explica el estudio de Kim et al., (2019) la adición de ácidos húmicos a la dieta mejora del crecimiento, y como hemos observado en nuestro estudio que tiene una tendencia a aumentar el crecimiento. Sin embargo, este efecto pudo ser debido al efecto positivo de la aplicación de antibióticos en los animales que consumieron ácidos húmicos, por tanto, serán necesarios más estudios para verificar un efecto positivo.

En cuanto a la adición de tributirinas en la dieta, no se ha podido observar un efecto adicional sobre el rendimiento productivo de los lechones en una dieta suplementada con ácidos orgánicos, monoglicéridos de ácidos orgánicos y aceites esenciales. Como se ha explicado es posible que los buenos resultados y la baja mortalidad hayan impedido observar mejoras adicionales en los animales, tal y como observaron Zhang et al., (2020) donde la tributirina mostró eficacia para modificar la profundidad de las criptas y las vellosidades intestinales mejorando así la salud digestiva de los lechones.

No se obtuvo una mejora adicional por la suplementación con fibra insoluble a una dieta que contenía una mezcla de ácidos orgánicos, monoglicéridos de ácidos orgánicos y aceites esenciales el rendimiento productivo ni presenta efectos negativos sobre la salud del lechón, tal y como se indica en los estudios de Schedle et al., (2008) y Sun et al., (2021). La adición de fibra insoluble aumenta la motilidad intestinal, y el movimiento de las vellosidades intestinales, mejorando la digestibilidad de los nutrientes (Sun et al., 2021). Además, las bacterias intestinales pueden producir ácidos orgánicos al fermentar la fibra insoluble y, por tanto, mejorar la función inmunológica y salud intestinal del lechón (Jha and Berrocoso, 2016; Wu et al. 2018 y Jha et al. 2019).

7.2. Conclusiones.

1. En las condiciones en las que se han realizado los estudios de la presente tesis doctoral, se ha observado que la combinación de ciertos aditivos y materias primas son una potencial alternativa para mejorar la salud intestinal y la productividad de los lechones, sobre todo, las primeras semanas posteriores al destete disminuyendo con ello la aparición de diarrea post destete.
2. La combinación de ácidos orgánicos, aceites esenciales y monoglicéridos de ácidos orgánicos ha sustituido con éxito la suplementación de la dieta con óxido de zinc.
3. La disminución de la proteína bruta en la dieta las primeras semanas posteriores al destete tuvo un efecto negativo sobre la productividad de los lechones.
4. No se pudo observar el efecto sobre de la adición de ácidos húmicos sobre la salud de los lechones ya que fue necesario el uso de antibióticos.

- Altieri, C., Bevilacqua, A., Cardillo, D., Sinigaglia, M., 2009. Effectiveness of fatty acids and their monoglycerides against gram-negative pathogens. *Int. J. Food Sci. Technol.* 44, 359-366. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2008.01744.x>.
- Aviles-Rosa, E.O., Surowiec, K., McGlone, J., 2020. Identification of faecal maternal semiochemicals in swine (*Sus scrofa*) and their effects on weaned piglets. *Sci Rep* 10, 549. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-62280-9>.
- Gabert, V.M., Sauer, W.C., 1994. The effects of supplementing diets for weaning pigs with organic acids. A review. *J. Anim. Feed Sci.* 3, 73-87. <https://doi.org/10.22358/jafs/69821/1994>.
- Jha, R., Berreco, J.F.D., 2016. Dietary fiber and protein fermentation in the intestine of swine and their interactive effects on gut health on the environment: A review. *Anim Feed Sci. Technol.* 212, 18-26. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2015.12.002>.
- Jha, R., Fohse, J.M., Tiwari, U.P., Li, L., Willing, B.P., 2019. Dietary fiber and intestinal health of monogastric animals. *Front. Vet. Sci.* 6, 48. <https://doi.org/10.3389/fvets.2019.00048>.
- Kim, K., Bae, I., Cho, J., Choi, Y., Ha, J., Choi, J., 2019. Effects of humic acid and blueberry leaf powder supplementation in feeds on the productivity, blood and meat quality of finishing pigs. *Food Sci., Anim Resour* 39, 276-285. <https://doi.org/10.5851/kosfa.2019.e22>.
- Kitahara, T., Koyama, N., Matsuda, J., Aoyama, Y., Hirikata, Y., Kamihita, S., Kohno, S., Nakashima, M., Sasaki, H., 2004. Antimicrobial activity of saturated fatty acids and fatty amines against methicillin resistant *Staphylococcus aureus*. *Bio. Pharm. Bull.* 27, 1321-1326. <https://doi.org/10.1248/bpb.27.1321>.
- López-Gálvez, G., López-Alonso, M., Pechova, A., Mayo, B., Dierick, N., Gropp, J., 2021. Alternatives to antibiotics and trace elements (copper and zinc) to improve gut health and zootechnical parameters in piglets: A review. *Anim. Feed Sci. Technol.* 271, 114727. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2020.114727>.
- Mani-López, E., García, H.S., López-Malo, A., 2012. Organic acids as antimicrobials to control *Salmonella* in meat and poultry products. *Int. Food Res. J.* 45, 713-721. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2011.04.043>.

- Mroczek, I., Frankiewicz, A., Selwet, M., 2005. The effect of acidifying additives on the microbiological stability of feed mixtures. *J. Anim. Feed Sci.* 14, 385-388. <https://doi.org/10.22358/jafs/70586/2005>.
- Neath, C., Portocarero, N., Jones, C., 2022. In vitro susceptibility of swine to feed additives and active ingredients with potential as antibiotic replacements. *J. Appl. Microbiol* 132, 1713-1723. <https://doi.org/10.1111/jam.15318>.
- Preuss, H.G., Echard, B., Dadgar, A., Talpur, N., Manohar, V., Enig, M., Bagchi, D., Ingram, C., 2008. Effects of essential oils and monolaurin on *Staphylococcus aureus*: *In Vitro* and *In Vivo* Studies. *Toxicol. Mech. Methods* 15, 4. <https://doi.org/10.1080/15376520590968833>.
- Ramos da Silva, L.R., Oliveira Ferreira, O., Nevez Cruz, J., Pereira Franco, C.J., Oliveira dos Anjos, T., Moraes Cascaes, M., Almeida da Costa, W., de Aguiar Andrade, E.H., Santana de Oliveira, M., 2021. Lamiaceae Essential Oils, Phytochemical Profile, Antioxidant, and Biological Activities. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine* 1, 18. <https://doi.org/10.1155/2021/6748052>.
- Schedle, K., Plitzner, C., Ettle, T., Zhao, L., Doming, K.J., Windisch, W., 2008. Effects of insoluble dietary fiber differing in lignin on performance, gut microbiology, and digestibility in weanling piglets. *Arch. Anim. Nutr.* 62, 141-151. <https://doi.org/10.1080/17450390801892617>.
- Sikkema, J., De Bont, J.A., Poolman, B., 1994. Interactions of cyclic hydrocarbons with biological membranes. *J. Biol. Chem.* 269, 8022-8028. [https://doi.org/10.1016/S0021-9258\(17\)37154-5](https://doi.org/10.1016/S0021-9258(17)37154-5).
- Skřivanová, E., Marounek, M., Dlouhá, G., Kanka, J., 2005. Susceptibility of *Clostridium perfringens* to C2–C18 fatty acids. *Letters in Applied Microbiology* 41, 77-81. <https://doi.org/10.1111/j.1472-765X.2005.01709.x>.
- Skřivanová, E., Molatová, Z., Skřivanová, V., Marounek, M., 2009. Inhibitory activity of rabbit milk and medium-chain fatty acids against enteropathogenic *Escherichia coli* O128. *Vet. Microbiol.* 135, 358-362. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2008.09.083>.
- Sun, X., Cui, Y., Su, Y., Gao, Z., Diao, X., Li, D., Zhu, X., Li, D., Li, Z., Wang, C., Shi, Y., 2021. Dietary fiber ameliorates lipopolysaccharide-induced intestinal barrier function damage in piglets by modulation of intestinal microbiome. *A.S.M.* 6, 2. <https://doi.org/10.1128/mSystems.01374-20>.

- Thomas, L.L., Woodworth, J.C., Tokach, M.D., Dritz, S.S., DeRoeuchey, J.M., Goodband, R.D., Williams, H.E., Hartman, A.R., Mellick, D.J., McKilligan, D.M., Jones, A.M., 2020. Evaluation of different blends of medium-chain fatty acids, lactic acid, and monolaurin on nursery pig growth performance. *Transl. Anim. Sci.* 4, 548-557. <https://doi.org/10.1093/tas/txaa024>.
- Trckova, M., Lorencova, A., Babak, V., Neca, J., Ciganek, M., 2017. Effects of sodium humate and zinc oxide used in prophylaxis of post-weaning diarrhoea on the health, oxidative stress status and fatty acid profile in weaned piglets. *Veterinárni medicína* 62, 16-28. <https://doi.org/10.17221/70/2016-VETMED>.
- Valenzuela-Grijalva, N. V., Pinelli-Saavedra, A., Muhlia-Almazan, A., Domínguez-Díaz, D., González-Ríos, H., 2017. Dietary inclusion effects of phytochemicals as growth promoters in animal production. *J. Anim. Sci. Technol.* 59, 8. <https://doi.org/10.1186/s40781-017-0133-9>.
- Vaara, M., 1992. Agents that increase the permeability of the outer membrane. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* 56, 395-411. <https://doi.org/10.1128/mr.56.3.395-411.1992>.
- Walia, K., Argüello, H., Lynch, H., Leonard, F.C., Grant, J., Yearsley, D., Kelly, S., Duffy, G., Gardiner, G.E., Lawlor, P.G., 2017. Effect of strategic administration of an encapsulated blend of formic acid, citric acid, and essential oils on *Salmonella* carriage, seroprevalence, and growth of finishing pigs. *Prev. Vet. Med* 137, 28-35. <https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2016.12.007>.
- Wu, Y., Jiang, Z., Zheng, C., Wang, L., Zhu, C., Yang, X., Wen, X., Ma, X., 2015. Effects of protein sources and levels in antibiotic-free diets on diarrhea, intestinal morphology, and expression of tight junctions in weaned piglets. *Anim. Nutr.* 1, 170-176. <https://doi.org/10.1016/j.aninu.2015.08.013>.
- Wu, X., Chen, D., Yu, B., Luo, Y., Zheng, P., Mao, X., Yu, J., He, J., 2018. Effect of different dietary non-starch fiber fractions on growth performance, nutrient digestibility, and intestinal development in weaned pigs. *Nutrition* 51-52, 20-28. <https://doi.org/10.1016/j.nut.2018.01.011>.
- Xu, Y., Lahaye, L., He, Z., Zhang, J., Yang, C., Piao, X., 2020. Micro-encapsulated essential oils and organic acids combination improves intestinal barrier function, inflammatory responses and microbiota of weaned piglets challenged with enterotoxigenic *Escherchia coli* F4 (K88⁺). *Anim. Nutr.* 6, 269-277. <https://doi.org/10.1016/j.aninu.2020.04.004>.

- Yoon, B.K., Jackman, J.A., Kim, M.C., Sut, T.N., Sut, T.N., Cho, N.J., 2017. Correlating Membrane Morphological Responses with Micellar Aggregation Behavior of Capric Acid and Monocaprin. *Langmuir* 33, 2750-2759. <https://doi.org/10.1021/acs.langmuir.6b03944>.
- Yu, D., Zhu, W., Hang, S., 2019. Effects of low-protein diet on the intestinal morphology, digestive enzyme activity, blood urea nitrogen, and gut microbiota and metabolites in weaned piglets. *Arch. Anim. Nutr.* 73, 287-305. <https://doi.org/10.1080/1745039X.2019.1614849>.
- Zhang, W.X., Zhang, Y., Zhang, X.W., Deng, Z.X., Liu, J.X., He, M.L., Wang, H.F., 2020. Effects of dietary supplementation with combination of tributyrin and essential oil on gut health and microbiota of weaned piglets. *Animals* 10, 180. <https://doi.org/10.3390/ani10020180>.