Comparación de métodos físicos de descontaminación microbiana de residuos de bolsas incubadas en el rumen

Zakraoui, F., Castrillo, C., Pérez, J.F., Vega, A.de

Departamento de Producción Animal y Ciencia de los Alimentos. Universidad de Zaragoza. Miguel Servet, 177. 50013 Zaragoza. España.

Introducción

Los residuos resultantes de la incubación de alimentos en bolsas de nylon suspendidas en el rumen tienen un distinto grado de contaminación microbiana, dependiendo fundamentalmente del tiempo de incubación y de su contenido en pared celular (Rodriguez Cortés, 1994). Esta contaminación da lugar a una subestimación de la degradabilidad de la proteína cuando es determinada por el método "in situ" (Kennedy y col.,1984). Es posible corregir el efecto de dicha contaminación mediante el empleo de marcadores de la fracción microbiana, pero estos métodos son onerosos por lo que en los últimos años se está tratando de encontrar formas de descontaminación directa de los residuos de las bolsas (Beckers y col.,1995). En el presente trabajo se ha estimado la contaminación microbiana de tres alimentos de muy distintas características en cuanto a su contenido en pared celular, y se ha probado la eficacia de varios métodos de descontaminación.

Material y métodos

Se utilizaron 5 ovejas canuladas en el rumen, que consumían diariamente 800 g de paja de cebada tratada con amoniaco (104 g PB/kg de MS), 200 g de cebada (115 gPB/kg de MS) y 25 g de un suplemento vitamínico-mineral. En cada uno de los animales se incubaron 8 bolsas de nylon de 10x15 cm y 45 μm de diámetro de poro, conteniendo 5g de paja de cebada tratada con amoniaco - P - (2 ovejas), pulpa de remolacha - PR - (2 ovejas) o maíz - M - (1 oveja), molidos en molino de martillos con criba de 2 mm, y con un contenido en proteína bruta de 104, 85,2 y 87,9 g/kg de MS, respectivamente.

Después de 24 h de incubación las bolsas se limpiaron con agua corriente, y posteriormente se sometieron a uno de los siguientes tratamientos: **1**) -CONT-, lavado durante 10 minutos en lavadora con agua fria, **2**) -CONG-, congelación a -18° C durante 24 h, descongelación en agua a 50°C, inmersión en agua a 0°C durante 5 minutos y lavado según (1), **3**) -CONG+STM-, congelación y cambio de temperatura según (2), batido de las bolsas en stomacher durante 5 minutos, y lavado según (1), **4**) -CONG+ULT-, congelación y cambio de temperatura según (2), inmersión en agua a 40°C en baño de ultrasonidos durante 5 minutos y lavado según (1). Una vez lavadas, las bolsas fueron secadas a 65°C durante 48 h y pesadas, determinandose el contenido en nitrógeno (N) (Kjeldhal) y purinas (HPLC) de los residuos.

Se incubaron también 36 bolsas (12 con cada uno de los alimentos), durante 24 h a 40°C, en una solución tampón borato-fosfato (Krishnamoorthy y col.,1982), siendo posteriormente sometidas a los mismos tratamientos indicados (3 bolsas/tratamiento), determinándose las pérdidas de N durante la incubación, y el contenido en purinas del residuo de las bolsas sometidas al tratamiento CONT.

Los resultados de la incubación "in situ" fueron analizados independientemente para cada alimento, siguiendo un diseño en bloques (animales), para P y PR, y un diseño jerárquico simple

para M, con dos repeticiones por animal y tratamiento. Los resultados de la prueba "in vitro" s analizaron también individualmente para cada tratamiento según un diseño jerárquico, con tre repeticiones por tratamiento.

Resultados y discusión

Los tres alimentos presentaron un bajo contenido en purinas (menos de 3 μmoles/g de MS siendo la mayor parte de ellas solubles tras 24 h de incubación en solución tampón (Tabla 1). Pc consiguiente, las purinas de los residuos resultantes de la incubación en rumen pueden se consideradas prácticamente en su totalidad de origen microbiano.

Tabla 1. Contenido en purinas (μmoles/g de MS) de las muestras, antes (Original) y después de s incubación "in vitro" e "in situ". Efecto del tratamiento de las bolsas después de su incubación.

			Residuos "in situ"				
	Original	residuos "in vitro"	CONT	CONG	CONG+STM	CONG+ULT	e.s.(1)
Paja	2,48	0,26	6,28a	5,41ab (14)	3,55c (43)	4,23bc (33)	0,368
Pulpa remolacha	1,80	0,72	6,62a	5,08b (23)	2,39d (64)	4,11c (38)	0,163
Maíz	2,89	0,50	5,71a	2,49b (43)	1,84b (68)	3,38ab (41)	0,652

(1) e.s. error standard para la comparación entre tratamientos
Entre paréntesis figura el porcentaje de purinas desaparecido de las bolsas en relación al tratamiento CONT.
Medias dentro de cada fila con distinta letra presentaron diferencias estadísticamente significativas (P<0,05)

Teniendo en cuenta el contenido en purinas de los residuos de las bolsas del tratamient CONT y considerando que el 15,2% del N bacteriano está en forma de ácidos nucleicos y que ésto contienen un 15% de N y 1,10 mmoles de purinas/g (Balcells y col.,1991), el nitrógeno microbian supondría un 36, 29 y 26%, o un 34, 26 y 24 % del total de N de los resíduos de P, PR y M, segú se considere que todas las purinas de los residuos son microbianas, o que parte de ellas (las qu permanecieron en las bolsas después de la incubación in vitro -tabla 1-) son alimentarias. L congelación y el cambio de temperatura supusieron una reducción del 14, 23 y 43% en el contenid en purinas de los residuos de P, PR y M, respectivamente (P<0,05, en los dos últimos casos). L aplicación de ultrasonidos tuvo un escaso efecto descontaminante, solo significativo en PR. E tratamiento con stomacher fue el más efectivo con todos los alimentos, al provocar una reducció (P<0,001) del contenido en purinas del 43% (P), 64% (PR) y 68% (M), en relación al tratamient control.

En la tabla 2 figuran los valores medios de degradabilidad aparente (dga) del N, obtenida un vez aplicados los diferentes tratamientos, y de degradabilidad real (dgr) estimada a partir de tratamiento control, considerando que todas las purinas residuales son de origen microbiano ; asumiendo las premisas anteriores. La contaminación microbiana de los residuos de las bolsas de tratamiento CONT originó en todos los alimentos una subestimación de la dg del N (18, 16 y ' unidades porcentuales en P, PR y M). El tratamiento posterior de las bolsas supuso u

aminoramiento de dicha subestimación, aunque continuó siendo significativa en el caso de la P. El tratamiento con stomacher corrigió en su totalidad la subestimación de la dg de la PR, y en el caso del maíz dio valores superiores a los de dgr (P<0,05), debido probablemente a pérdidas de N no bacteriano a través de los poros de las bolsas. Dicha hipótesis es confirmada por los resultados de la tabla 3, que muestran una pérdida de aproximadamente un 10% de N tanto de PR como de M, debidas al tratamiento con stomacher de los residuos de incubación en solución tampón.

Tabla 2. Degradabilidad real (dgr)(2), y aparente (dga) de la proteína bruta (%) después de 24 h de incubación "in situ". Efecto del tratamiento de las bolsas después de su incubación.

		dga				
	dgr	CONT	CONG	CONG+STM	CONG+ULT	e.s.(1)
Paja	86,2a	67,9c	69,0c	74,0b	70,0c	0,589
Pulpa remolacha	58,8a	42,4b	42,5b	58,9a	52,5ab	3,606
Maiz	65,4b	58,2b	64,4bc	83,6a	54,0b	4,188

(1) e.s. error standard para la comparación entre tratamientos. (2) Ver texto
Medias dentro de cada fila con letra distinta presentaron diferencias estadísticamente significativas (P<0,05)

Tabla 3. Solubilidad de la proteína bruta (%) después de incubación durante 24h en solución tampón. Efecto del tratamiento de las bolsas después de su incubación.

	CONT	CONG	CONG+STM	CONG+ULT	e.s.(1)
Paja	76,9ab	78,7a	76,5ab	76,0b	0,66
Pulpa remolacha	41,6b	41,4b	45,9a	40,9b	0,69
Maiz	38,9ab	35,4c	42,0a	38,3ab	1,91

1) e.s. error standard para la comparación entre tratamientos
Medias dentro de cada fila con letras con distinta letra presentaron diferencias estadísticamente significativas (P<0,05)

En conclusión, el tratamiento con stomacher de las bolsas conteniendo el residuo de incubación permite una descontaminación microbiana de hasta el 60%, pero en el caso de alimentos con elevado contenido en almidón o materiales solubles puede provocar pérdidas de material alimentario, dificultando la interpretación de los datos. La congelación y el cambio de temperatura permiten una descontaminación de hasta el 40%, pero muy variable según el material incubado, siendo escaso el efecto sobre los valores de dg de la proteína. La inmersión en baño de ultrasonidos después de congelación tiene escaso efecto descontaminante.

Referencias bibliográficas

Balcells,J., Guada, J.A., Castrillo, C., Gasa,J. 1991. J. Agric. Sci., Camb., 116, 309-317.
Beckers,Y., Théwis,A., Maudoux,B. y Francois,E. 1995. J. Anim. Sci., 73, 220-227.
Kennedy,P.M., Hazlewood,G.P.,Milligan,L.P. 1984. Br. J. Nutr., 52, 403-417.
Krishnamoorthy,U., Muscato,T.V., Sniffen,C.J., Van Soest,P.J. 1982. J. Dairy Sci., 65, 217-225.
Rodriguez Cortés, C. 1994. Tesis Master. C.I.H.E.A.Zaragoza.