VARIACION DE LA RELACION ISOTOPICA DEL NITROGENO A NIVEL DE LOS ALIMENTOS Y SU FRACCION INSOLUBLE EN EL RUMEN: IMPLICACIONES SOBRE LA ESTIMACION DE LA CONTAMINACION MICROBIANA MEDIANTE EL EMPLEO DE ^{15}N.[1]

C. Rodríguez, J. González, M.R. Alvir, J.L. Repetto y C. Cajarville
Departamento de Producción Animal. Universidad Politécnica de Madrid
ETS Ingenieros Agrónomos. 28040 Madrid

Introducción

La precisión de los estudios sobre colonización y contaminación microbiana de los alimentos en el rumen, realizados utilizando ^{15}N, resulta dependiente del valor considerado para la abundancia natural en ^{15}N de los alimentos estudiados. Para este valor se ha utilizado bien la media atmosférica (0,3663 átomos%) o valores arbitrarios próximos a ésta (Beckers *et al.*, 1995; 0,365 átomos%), bien un valor medio de alimentos (Broderick y Merchen, 1992; 0,368 átomos%) o bien los valores específicos de los alimentos analizados, no habiéndose considerado, en cambio, el empleo del valor de abundancia natural correspondiente a la fracción insoluble de los alimentos, que es la única que puede ser objeto de colonización microbiana. El objetivo de este trabajo ha sido estudiar la posible existencia de diferencias entre la abundancia natural en ^{15}N de los alimentos y de su fracción insoluble y establecer la incidencia de las mismas sobre la precisión de las estimas de contaminación nitrogenada de los alimentos en el rumen.

Material y métodos

Se analizó (por duplicado) la abundancia natural en ^{15}N de un total de 16 alimentos (tabla 1), así como de su fracción insoluble, obtenida a partir del lavado mecánico en agua fría (3 lavados de 5 minutos) de muestras de los mismos (3 por alimento) contenidas en bolsas de nylon (46μm de poro). Como una aplicación, se determinó la contaminación bacteriana en 4 de estos alimentos (tabla 2) incubados *in situ* a diferentes tiempos en el rumen de 4 corderos adultos, que recibían a un nivel de 40gMS/kg^{0,75}, una dieta mixta constituida por heno y concentrado en relación 2:1. Para ello se utilizó ^{15}N infundido en el rumen a dosis de 40mg/animal y día en forma de $(NH_4)_2SO_4$. La proporción de N bacteriano se determinó como el cociente entre los enriquecimientos en ^{15}N de los residuos de incubación y de una muestra de bacterias adherentes aislada del rumen de cada cordero, calculados ambos en relación a la abundancia natural en ^{15}N determinada bien sobre la muestra integra o sobre la fracción insoluble del alimento problema.

Resultados y discusión

En la tabla 1 se presentan los valores de abundancia natural en ^{15}N de los alimentos y de su fracción insoluble, así como del intervalo de confianza ($P<0,05$) correspondiente a estas últimas observaciones. Puede apreciarse que en la mayoría de los alimentos (excepto harina de pescado,

[1] Trabajo financiado por los proyectos CICYT:GAN 89-0126 y AGF 93-0549-CO2-01.

heno de alfalfa, paja de cebada y salvado de trigo) la abundancia natural en ^{15}N del alimento integro no se puede considerar idéntica a la de su fracción insoluble en bolsas de nylon. Sin embargo, esta variación no presenta ninguna tendencia definida, siendo siempre pequeña, no superando en ningún caso el 0,9%. Estos resultados son demostrativos de que la distribución del ^{15}N en las distintas fracciones de los alimentos no es estrictamente uniforme, evidenciando además, la existencia de diferencias de relativa importancia entre alimentos.

Tabla 1. Valores de abundancia natural en ^{15}N (átomos%) en los alimentos íntegros y sus fracciones insolubles.

alimento	muestra original	fracción insoluble	intervalo de confianza**	variación (%)
harina de carne	0,36878*	0,36855	0,00010	-0,07
harina de pescado	0,37044	0,37045	0,00027	<0,01
gluten feed	0,36784*	0,36561	0,00129	-0,61
grano de cebada	0,36953*	0,37176	0,00040	0,60
grano de maíz	0,36859*	0,37161	0,00078	0,82
harina de girasol	0,36836*	0,37111	0,00025	0,75
harina de soja	0,36711*	0,36956	0,00027	0,67
soja integral	0,36781*	0,37064	0,00024	0,77
bagazo de cervecería	0,36774*	0,36606	0,00019	-0,46
cascarilla de soja	0,36687*	0,36463	0,00067	-0,61
pulpa de remolacha	0,36866*	0,37187	0,00041	0,87
salvado de trigo	0,36714	0,36700	0,00132	-0,04
heno de alfalfa	0,36747	0,36727	0,00055	-0,06
heno de veza avena	0,36811*	0,36647	0,00096	-0,45
paja de cebada	0,36892	0,36950	0,00224	0,16
paja de lenteja	0,36678*	0,36941	0,00032	0,72

* Valor externo al intervalo de confianza de la fracción insoluble. ** $P<0,05$.

En la tabla 2 se presenta la contaminación microbiana considerando como base de calculo la abundancia natural en ^{15}N del alimento original o la de su fracción insoluble, así como el error relativo debido a considerar el primer valor respecto del segundo. Como puede observarse, a pesar de que las diferencias entre los valores de abundancia natural en ^{15}N en el alimento original y su fracción insoluble sean pequeñas, éstas se traducen en errores en las estimas de los niveles de contaminación microbiana de los alimentos, cuya magnitud puede ser considerable. El sentido de este error es lógicamente idéntico al de la diferencia en la abundancia natural entre la fracción insoluble y el alimento integro, aumentando su magnitud con la cuantía de esta diferencia. Por otra parte, su magnitud se reduce, tanto en términos absolutos como relativos, con el incremento del

tiempo de incubación. Este hecho esta en relación con la variación con el tiempo de incubación de la contribución de las fracciones alimentaria y microbiana al residuo de incubación, incrementándose la incidencia del error al aumentar la importancia de la primera, al estar la causa del error en relación con ésta. Por esta misma razón, el error es más importante en los alimentos que son objeto de una baja contaminación, como es el caso del gluten feed, en el cual para el tiempo de 2 horas de incubación, utilizando como referencia el alimento original, se obtienen valores de contaminación negativos y, por tanto, inaceptables desde el punto de vista biológico.

Tabla 2. Contaminación microbiana (mg N bacteriano/100 mg N residual), calculada en base a la abundancia natural en ^{15}N del alimento original o de su fracción insoluble.

alimento	fracción	horas de incubación			
		2	16	48	72
Pulpa de remolacha	original	5,76	23,7	26,1	41,6
	insoluble	3,67	22,1	24,5	40,3
	error (%)	56,9	7,52	6,67	3,23
Harina de girasol	original	5,01	17,2	28,7	- - - -
	insoluble	3,22	15,7	27,4	- - - -
	error (%)	55,7	9,88	4,86	- - - -
Gluten feed	original	-1,35	8,06	11,0	- - - -
	insoluble	0,20	9,41	12,3	- - - -
	error (%)	-786	-14,4	-10,6	- - - -
Heno de veza avena	original	7,78	42,1	68,8	66,8
	insoluble	8,79	42,7	69,2	67,2
	error (%)	-11,4	-1,47	-0,46	-0,51

De forma análoga, el uso de valores de referencia prefijados para la abundancia natural en ^{15}N de los alimentos conduce a la introducción de errores similares, que pueden ser la causa de las importantes diferencias que se aprecian en la bibliografía relativa a la contaminación microbiana de los alimentos en el rumen.

Referencias bibliográficas

Beckers Y., Thewis A., Maudoux B. y Francois E. 1995 "Studies on the *in situ* nitrogen degradability corrected for bacterial contamination of concentrate feeds in steers". J. Anim. Sci., 73:220-227.

Broderik G. A. y Merchen N. R. 1992 "Markers for quantifying microbial protein synthesis in the rumen". J. Dairy Sci., 71:1623-1633.