PREDICCIÓN MEDIANTE TECNOLOGÍA NIRS DE LOS PARÁMETROS CINÉTICOS DE DEGRADACIÓN RUMINAL DE LA PROTEINA BRUTA DE FORRAJES

S. Andrés[1], A. Calleja[1], R. Peláez[1], S. López[1], A.R. Mantecón[2], F.J. Giráldez[2]
[1]Departamento de Producción Animal. Universidad de León. 24071 León
[2]Estación Agrícola Experimental. CSIC. Apartado 788, 24080 León

INTRODUCCIÓN

Para poder cuantificar el valor proteico de los alimentos para rumiantes es imprescindible disponer de información, lo más precisa posible, sobre la degradabilidad ruminal de sus constituyentes nitrogenados. Esta necesidad ha dado lugar a la existencia de un gran número y diversidad de procedimientos que, en condiciones estándar, permiten determinar la degradabilidad de la proteína bruta de los alimentos a nivel ruminal. No obstante, se ha aceptado como método de referencia el procedimiento *in situ,* permitiendo que los sistemas de alimentación describan la proteína de la dieta en función de la proteína degradable y de la proteína no degradable en el rumen. Sin embargo, la aplicación rutinaria de este método implica un trabajo laborioso y costoso en tiempo, medios y dedicación.

Por tanto, el objetivo del presente trabajo es evaluar la capacidad predictiva de la tecnología NIRS para la estimación de los parámetros cinéticos de degradación de la proteína bruta en forrajes.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se utilizaron 58 henos recogidos en distintas explotaciones de la montaña de León, que representan recursos alimenticios con una variada degradabilidad de la PB y en la que, aunque depende de varios factores, existen diferencias que no han podido ser atribuidas a características concretas. Para la determinación de la degrababilidad *in sacco* de la PB se utilizaron tres vacas de raza Frisona, provistas de una cánula permanente en el rumen, y que recibían una ración diaria compuesta por 4 kg de pienso, 3 kg de alfalfa y 3 kg de paja administrada en dos tomas iguales a las 8 y a las 16 h. Se pesaron 5 g de MS de cada uno de los henos en bolsas de nailon de 10x15 cm de tamaño y un diámetro de poro de 40 μm, que se introdujeron en el rumen de los animales donde fueron incubadas durante 2, 4, 8, 12, 24, 48, 72 y 96 h, de acuerdo con la metodología propuesta por Mehrez y Ørskov (1977). Una vez lavados, pesados y molidos, los residuos de incubación se analizaron para determinar su contenido en PB (Kjeldahl). Los datos de desaparición de la PB se ajustaron al modelo exponencial de Ørskov y McDonald (1979), $P = a + b\left(1 - e^{-c\,(t-L)}\right)$, siendo **P** la cantidad de PB desaparecida de la bolsa a un tiempo **t**, **a** es la ordenada en el origen y representa la fracción soluble que desaparece inmediatamente de la bolsa, **b** es la fracción insoluble potencialmente degradable, **c** es el ritmo fraccional de degradación de la fracción **b** y **L** el tiempo de retraso en el inicio de la degradación. La degradabilidad potencial se calculó como a+b, y la degradabilidad efectiva como $DE_k = a + \frac{b \times c \times \left(e^{-Lk}\right)}{c + k}$, siendo **k** el ritmo de paso.

Se recogieron los espectros de las 58 muestras de henos mediante un espectrofotómetro de infrarrojos InfraAlyzer 500 (Bran+Luebbe GmbH, Norderstedt, Alemania), conectado a un PC. Para ello, se introdujeron las muestras en cápsulas circulares con ventana de cuarzo, que se irradiaron con luz infrarroja entre los 1100 y los 2500 nm, con el fin de obtener una medida de absorbancia cada 2 nm. Para cada muestra se recogieron cuatro espectros en dos cápsulas distintas que, finalmente, fueron promediados.

Los datos espectrales se trataron con derivadas con diferentes tamaños de gap y segmentos de suavizado y las ecuaciones de calibración se crearon mediante regresión por mínimos cuadrados parciales. Unicamente se muestran las calibraciones que ofrecieron los errores estándar de validación cruzada más bajos.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Tabla 1. Rango, media y desviación estándar de los parámetros estudiados, así como los estadísticos de las ecuaciones de predicción obtenidas.

Parámetro	Muestras de calibración (n=58)			p	R^2	R^2_{aj}	EEC	EEVC	RPD	RER
	Rango	Media	DE							
a	18,6 - 48,1	33,2	6,59	3	0,720	0,704	3,588	3,935	1,68	7,50
b	30,3 - 76,9	54,7	9,75	2	0,810	0,803	4,332	4,595	2,15	10,26
c	0,036 - 0,147	0,084	0,0236	6	0,513	0,455	0,0175	0,0197	1,20	5,64
L	0,00 - 3,55	1,48	1,125	2	0,180	0,151	1,036	1,070	1,05	3,31
a + b	74,6 - 95,5	87,8	4,48	3	0,814	0,804	1,987	2,162	2,07	9,68
$DE_{0,02}$	60,9 - 85,2	75,6	4,56	3	0,727	0,712	2,450	2,652	1,72	9,16
$DE_{0,04}$	52,7 - 78,2	67,6	4,65	2	0,602	0,588	2,985	3,233	1,44	7,88
$DE_{0,06}$	46,3 - 72,8	61,9	4,71	3	0,547	0,522	3,256	3,545	1,33	7,47
$DE_{0,08}$	41,9 - 68,4	57,6	4,79	3	0,520	0,494	3,410	3,739	1,28	7,09

a: fracción soluble (%); **b**: fracción insoluble pero potencialmente degradable (%); **c**: ritmo fraccional de degradación de la fracción b (h^{-1}); **L**: tiempo de retraso (h); **$DE_{0,02}$, $DE_{0,04}$, $DE_{0,06}$, $DE_{0,08}$**: degradabilidad efectiva (%) con un ritmo de paso de 0,02, 0,04, 0,06 y 0,08 (h^{-1}) respectivamente; **n**: número de muestras empleadas para crear la calibración; **p**: número de términos en la ecuación; **R^2**: coeficiente de determinación para el procedimiento de calibración; **R^2_{aj}**: coeficiente de determinación ajustado para el procedimiento de calibración; **EEC**: error estándar de calibración; **EEVC**: error estándar de validación cruzada; **RPD**: relación entre la desviación estándar de los valores del grupo de muestras de calibración y el error estándar de validación cruzada; **RER**: relación entre el rango de los valores del grupo de muestras de calibración y el error estándar de validación cruzada

Como puede observarse en la tabla 1, la estimación de la fracción soluble (a) fue menos precisa que la de la fracción insoluble (b). Es posible que la explicación de este hecho pueda encontrarse en la heterogeneidad de esta fracción nitrogenada, compuesta fundamentalmente por proporciones variables de péptidos y aminoácidos (Van Soest, 1994). No obstante, puesto que las muestras incubadas en el rumen se encontraban molidas, puede que, en algunos forrajes, la fracción "a" se haya sobreestimado, impidiendo que, posteriormente, el ajuste de las ecuaciones de calibración pudiera realizarse con éxito.

Por otra parte, también cabe la posibilidad de que existiese una gran variabilidad en las desapariciones de la PB a tiempos cortos de incubación, que son los que afectan, en mayor medida, a la estimación de los parámetros a, c y L mediante el modelo exponencial de Ørskov y McDonald (1979). Esto

también explicaría el hecho de que no hayan podido obtenerse ecuaciones de calibración apropiadas para estimar c y L.

Con el objeto de conocer en qué medida los distintos ritmos de paso de la digesta podían afectar a la exactitud de las estimaciones de la degradabilidad efectiva de los forrajes, ésta se calculó con 4 ritmos distintos. Con los ritmos de paso más altos, el tiempo de retención en el rumen se acorta y, bajo estas condiciones, el peso relativo de los parámetros c y L es más alto que con ritmos de paso más lentos y tiempos de retención más largos, en los que cobra mayor importancia el parámetro b. Así, resulta significativo el empeoramiento de la estimación de la degradabilidad efectiva con los ritmos de paso más rápidos, ya que aumenta el peso relativo del tiempo de retraso (L) y del ritmo fraccional de degradación (c). Todo ello parece ser corroborado por el hecho de que la estimación de la degradabilidad potencial, para cuyo cálculo no es necesario k, c ni L, sea bastante más exacta que cualquiera de las anteriores. No obstante, es improbable que con este tipo de alimentos se den ritmos de paso de 0,06 y 0,08 h^{-1}.

Al igual que ya sucediera en otros trabajos previos (De la Roza *et al.*, 1998), aunque se ha encontrado cierta relación entre los parámetros de la degradabilidad de la PB y los espectros de las muestras obtenidos en el infrarrojo, las ecuaciones de calibración obtenidas no presentan una exactitud lo suficientemente buena como para ser aplicadas rutinariamente. No obstante, hay que tener en cuenta que se ha pretendido predecir mediante tecnología NIRS parámetros estimados a partir del ajuste de los datos de desaparición de PB a un modelo matemático, y que estos parámetros pueden variar en función de los tiempos de incubación empleados. Además, los datos de degradabilidad *in situ* de la proteína bruta se predicen, en general, peor que los de la materia seca debido, probablemente, a la contaminación microbiana de los residuos de incubación.

AGRADECIMIENTOS

Deseamos expresar nuestro más sincero agradecimiento a todos los miembros del Departamento de Producción Animal y Ciencia de los Alimentos de la Universidad de Zaragoza, así como a la Dra. Begoña de la Roza Delgado y al Dr. Pedro L. Rodríguez Medina por su colaboración en este trabajo. Trabajo financiado por el proyecto CICYT-FEDER 1FD1997-0776 y el contrato de investigación Bran+Luebbe-CSIC.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

DE LA ROZA, B.; MARTÍNEZ, A.; SANTOS, B.; GONZÁLEZ, J.; GÓMEZ, G., 1998. The estimation of crude protein and dry matter degradability of maize and grass silages by near infrared spectroscopy. *Journal of Near Infrared Spectroscopy* **6:** 145-151.

MEHREZ, A.Z.; ØRSKOV, E.R., 1977. A study of the artificial fiber bag technique for determining the digestibility of feeds in the rumen. *J. Agric. Sci. (Cambridge)* **88**: 645-650.

ØRSKOV, E.R.; MC DONALD, I., 1979. The estimation of protein degradability in the rumen from incubation measurements weighted according to rate of passage. *J. Agric. Sci. (Cambridge)* **92**: 499-503.

VAN SOEST, P.J., 1994. *Nutritional Ecology of the Ruminant*, 2nd edn. Cornell University Press. Ithaca (EEUU).