PROPUESTA DE UN MÉTODO *IN SITU* SIMPLIFICADO PARA LA EVALUACIÓN PROTEICA DE LOS ALIMENTOS EN RUMIANTES*

J. González, M. Ouarti, María R. Alvir y C.A. Rodríguez
Dpto. de Producción Animal. E.T.S.I. Agrónomos. Univ. Politécnica. 28040 Madrid.

INTRODUCCIÓN

Los métodos *in situ* basados en procedimientos de integración matemática para la estima de la degradabilidad efectiva (DE; Ørskov y McDonald, 1979) y la digestibilidad intestinal efectiva (DIE; González *et al*., 1999) precisan de numerosas incubaciones y análisis químicos en función del tiempo de permanencia en el rumen, resultando, así, poco practicables cuando se corrige la contaminación microbiana o se estudian múltiples nutrientes, como los aminoácidos. Para minimizar estos inconvenientes, González *et al*. (2003) propusieron un método para estimar la DIE basado en la generación, a partir de los residuos de incubación ruminal, de una muestra representativa del flujo post-ruminal de alimento. En este trabajo se ha aplicado este método a tres alimentos de diferentes características con objeto de mostrar su utilidad para establecer simultáneamente el valor de DE.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se utilizaron tres corderos adultos fistulizados en rumen y duodeno, alimentados con una dieta de heno de alfalfa (HA, 45%) y concentrado (55%) a base de harina de soja (HS) y grano de cebada (GC). La ración, que fue distribuida a 50 g/kg $P^{0,75}$ en seis comidas/día, incluía pues los tres alimentos a testar.

La degradación ruminal se estudió utilizando bolsas de nylon (7 x 11 cm de dimensiones internas y 46 μm de poro) conteniendo 3 g de muestra, molida a 2 mm. De forma previa y durante estos estudios se infundió de forma continua en el rumen una sal de ^{15}N, aislándose, al final del período experimental, una muestra de bacterias adherentes para realizar la corrección de los resultados sobre la base de su contaminación microbiana. Para cada alimento se realizaron 2 incubaciones en el rumen, con muestras duplicadas, a tiempos de 0, 2, 4, 8, 16, 24 y 48h para HS y GC y de 0, 3, 6, 12, 24, 48 y 72 h para HA. Tras su extracción del rumen, las bolsas fueron someramente lavadas con agua corriente y almacenadas a –20 ºC. Tras su descongelación, se lavaron en una mini lavadora de turbina (3 x 5 min.). Este proceso de lavado se utilizó también para establecer el valor a 0 h. Una de las réplicas se desecó a 80 ºC durante 48 h, siendo analizada para MS, N y ^{15}N, liofilizándose la segunda réplica. La evolución de la desaparición aparente de MS y PB se ajustó en cada animal a un modelo exponencial (Ørskov y McDonald, 1979). El valor correspondiente de DE se determinó por el método de integración matemática propuesto por estos autores en base a la tasa de salida de partículas del rumen, determinada (González *et al*., 1998) para HS (5,87 ± 1,65 (d.t), utilizándose este valor para ambos concentrados) y para HA (4,52 ± 1,01) marcados por inmersión con Yb y Eu (10 mg Yb o Eu/g de alimento), respectivamente. Los valores aparentes y reales de DE y DIE de la PB se establecieron a partir de una muestra representativa del flujo post-ruminal de alimento no degradado, generada en base a

* Trabajo financiado por la CICYT. Proyecto nº AGL 2002-3662.

las cinéticas de degradación de la MS y las tasas de salida de partículas del rumen. Para ello, los residuos liofilizados se mezclaron en cantidades iguales para cada animal y tiempo de incubación ruminal. Seguidamente, estas muestras se mezclaron en cada cordero en proporciones predeterminadas en base a la función que define el flujo post-ruminal acumulativo en el tiempo del alimento (González *et al*., 2003). Para ello, los residuos obtenidos para cada tiempo de incubación se consideraron representativos del intervalo de flujo comprendido entre los valores medios de este tiempo con el anterior y el siguiente, utilizándose un intervalo simétrico para los tiempos finales de incubación. Las muestras así obtenidas fueron analizadas para MS, N y ^{15}N. El valor (como proporción) de DE de la PB (o de cualquier nutriente) por este método puede calcularse como:

$$DE = 1 - \left[\frac{C_{mc} (1 - DEMS)}{C_a} \right]$$

siendo C_a y C_{mc} la concentración en PB en el alimento y en la muestra compuesta, respectivamente, y DEMS la DE de la MS determinada por integración matemática.

El valor de DIE se determinó mediante la técnica de micro bolsas móviles (mismo material; ∅ = 2,2 cm), utilizándose 8 replicas (200 mg) por cordero y alimento (12 en la harina de soja, dada la escasa magnitud del residuo resultante). Las bolsas se introdujeron por la cánula duodenal y se recuperaron en las heces, procesándose de forma idéntica a la indicada para las bolsas incubadas en el rumen. Estas muestras se mezclaron en cada cordero de forma previa a su análisis para N y ^{15}N. La fracción de MS y PB digerida en el intestino fue calculada como la cantidad desaparecida de la bolsa dividida por la cantidad presente inicialmente en ésta. En el caso de la PB (o de cualquier otro nutriente) puede determinarse más cómodamente como:

$$DIE = 1 - \left[\frac{C_i (1 - DIEMS)}{C_{MC}} \right]$$

siendo C_i la concentración en PB en la muestra no digerida y DIEMS la DIE de la MS. Estos valores, al igual que los de DE, fueron corregidos a partir de la contaminación microbiana producida en el rumen.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La composición de los alimentos (tabla 1) fue similar a la habitualmente observada, salvo por la elevada proporción de NDIN en HS y el alto contenido en PB de GC.

Tabla 1. Composición química (g/kg MS) de los alimentos

Alimento	MO	PB	EE	FND	FAD	NDIN[1]	ADIN[1]
H. de soja	930	505	22,9	138	52,1	12,1	0,33
G. de cebada	969	157	20,8	195	49,9	18,5	1,17
H. de alfalfa	906	168	12,7	492	359	16,3	7,47

[1]% del N total; MO: materia orgánica; PB: proteína bruta; EE: extracto etéreo; FND: fibra neutro detergente; FAD: fibra ácido detergente; NDIN y ADIN: N insoluble en soluciones de FND y FAD, respectivamente.

Los valores aparentes de DE de la PB correspondientes al método en ensayo fueron similares a los obtenidos por integración matemática: 47,0 *vs* 46,5% (ESM = 0,18; *P*

= 0,199) para HS, 76,5 *vs* 75,3% (ESM = 0,41; *P* = 0,174) para GC y 68,7 *vs* 69,7% (ESM = 0,25; *P* = 0,103) para HA. Estos valores se sitúan dentro de los rangos habituales en estas categorías de alimentos (Sauvant *et al*., 2002), excepto la baja DE observada para HS, que permite suponer un fuerte tratamiento térmico previo en esta muestra, concordante con la alta proporción de NDIN observada.

Tabla 2. Efecto de la contaminación microbiana en el rumen sobre las estimas de utilización intestinal de la proteína bruta de diferentes alimentos.

	Harina de soja			Grano de cebada			Heno de alfalfa		
	ap.	corr.	ESM	ap.	corr.	ESM	ap.	corr.	ESM
PB bypass[1]	53,0	52,2	0,12**	23,5	20,8	0,26**	31,3	23,2	0,27***
DIE (%)	98,8	98,6	0,04†	82,7	74,5	0,80*	64,8	39,2	2,25**
PB digerida[1]	52,4	51,5	0,13**	19,5	15,6	0,36**	20,6	0,64	0,39***

[1] % PB total; † *P* < 0,1; * *P* < 0,05; ** *P* < 0,01; *** *P* < 0,001.

La corrección de la contaminación microbiana redujo las estimas de PB by-pass (tabla 2). La importancia de este error guarda lógicamente relación con la proporción de N microbiano presente en las muestras compuestas: 1,60 ± 0,856; 11,1 ± 2,70 y 24,4 ± 3,96% en HS, GC y HA, respectivamente. Esta contaminación se elimina debido a la digestión en el intestino en un 99,8, 98,8 y 87,9%, respectivamente. Como consecuencia, las estimas aparentes de DIE sobreestiman los valores reales, variando ampliamente este error con los alimentos (tabla 2). A nivel de la PB digerida en el intestino, la sobrevaloración es acumulativa (1, 7, 25,0 y 113,7% en HS, GC y HA, respectivamente). Estos resultados evidencian la necesidad de esta corrección en los estudios de valoración proteica. El método propuesto representa una importante simplificación a este nivel y posibilita determinaciones prácticamente imposibles con los métodos de integración, como p.e. la DIE de los aminoácidos. Este método se adapta, además, a la realización de estudios sistemáticos con un número elevado de alimentos que permitan rentabilizar los esfuerzos necesarios para el aislamiento de las bacterias utilizadas en esta corrección. La duplicación de muestras (y la liofilización de estas réplicas) resulta necesaria para la estima de la digestibilidad intestinal, siendo prescindible si sólo se pretende estimar la degradabilidad ruminal.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

González J., Rodríguez C.A., Andrés S.G., Alvir M.R., Rumen degradability and microbial contamination of fish meal and meat meal measured by the in situ technique, Anim. Feed Sci. Technol. 73 (1998) 71-84.

González J., Sánchez L., Alvir M.R., Estimation of intestinal digestibility of undegraded sunflower meal protein from nylon bag measurements. A mathematical model. Reprod. Nutr. Dev. 39 (1999) 607-616.

González J., Faría-Mármol J., Matesanz B., Rodríguez C.A., Alvir M.R., In situ intestinal digestibility of dry matter and crude protein of cereal grains and rapeseed in sheep, Reprod. Nutr. Dev. 43 (2003) 29-40.

Ørskov E.R., McDonald I., The estimation of protein degradability in the rumen from incubation measurements weighted according to rate of passage, J. Agric. Sci. Camb. 92 (1979) 499-503.