

Rev Biomed 2001; 12:180-184.

Determinación de cromo en heces bovinas: variaciones en los resultados en función de la fuente de heces para la preparación de la curva de calibración.

Comunicación Breve

Carlos Sandoval-Castro, Rosario Quijano-Cervera, Luis Ramírez-Avilés, Rubén Cetina-Góngora.

Departamento de Nutrición Animal, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Autónoma de Yucatán, Mérida, Yucatán, México.

RESUMEN.

Introducción. El cromo es utilizado en pruebas de digestibilidad, en determinaciones de tasa de pasaje gastrointestinal y consumo voluntario de rumiantes en estudios de nutrición animal.

Objetivo. Con el objeto de corregir posibles errores en la metodología analítica de su determinación se evaluó el efecto de la inclusión de heces bovinas de diferente origen en la preparación de la solución patrón y curvas de calibración.

Materiales y métodos. Se colectaron heces de cuatro bovinos con diferentes dietas, y se utilizaron para elaborar curvas de calibración para medición espectrofotométrica de cromo. Las pendientes e interceptos de las curvas de calibración resultantes fueron analizadas estadísticamente para evaluar el efecto de la incorporación de heces de diferente origen.

Resultados. No se encontró diferencia ($p > 0.05$) en las pendientes de las curvas de calibración entre heces provenientes de bovinos con

diferentes dietas. El intercepto de la curva de calibración fue diferente entre animales ($p < 0.001$). Sin embargo, las diferencias encontradas fueron de mínima magnitud (< 0.013 unidades de absorbancia), lo que carece de relevancia práctica.

Conclusión. Para la preparación de curvas de calibración para la medición de cromo en heces bovinas, estas pueden provenir de uno o varios animales sin afectar la precisión de los resultados.

(Rev Biomed 2001; 12:180-184)

Palabras Clave: Bovinos, determinación de Cromo, digestibilidad, espectrofotometría

SUMMARY.

Analysis of chromium in cattle faeces: variations in the results due to the source of faeces for standard curve calibration.

Introduction. Chromium oxide is widely used in

Solicitud de sobretiros: Dr. Carlos A. Sandoval-Castro. Fac. de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Autónoma de Yucatán, km 15.5 carretera Xmatkuil, Apdo. 4-116 Itz'inná, Mérida, Yucatán, 97100 México. Fax: (99) 42 32 05 E-mail: bcasso@tunku.uady.mx

Recibido el 28/Noviembre/2000. Aceptado para publicación el 1/Febrero/2001.

Este artículo está disponible en <http://www.uady.mx/~biomedic/rb011235.pdf>

Vol. 12/No. 3/Julio-Septiembre, 2001

animal nutritional studies involving digestibility, digesta flow rate and voluntary intake of ruminants. The objective of the present study was to assess the effect of different sources of cattle faeces (animals and diets) as possible sources of error in the elaboration of the chromium standards needed in the analytical process for chromium analysis at laboratory level.

Materials and methods. Faeces, collected from four cows fed with different diets, were used to elaborate standards and calibration curves for the colorimetric analysis of chromium. The slopes and intercepts resulting for the calibration curves were analysed statistically and the effect of the source of faeces was assessed.

Results. No differences were found ($p > 0.05$) in the slopes originated from calibration curves that included faeces from different sources. The intercepts were different between animals ($p < 0.001$). However, they lack of practical implications as the range of the difference was minimal (< 0.013 absorbance units).

Conclusion. standards and calibration curves may be prepared using a single source of faeces without affecting the precision of the results.

(*Rev Biomed 2001; 12:180-184*)

Key words: Chromium analysis, cattle, digestibility, spectrophotometry

INTRODUCCIÓN.

El óxido de cromo (Cr_2O_3) es uno de los marcadores más utilizados en pruebas de digestibilidad, flujo de digesta en el tracto gastrointestinal y consumo voluntario de rumiantes (1). La determinación de cromo (Cr) en materiales biológicos requiere la digestión de la materia orgánica de la muestra y la solubilización del Cr. Posterior a estos procesos el Cr puede ser determinado por simple lectura fotométrica (2). Sin embargo, los procesos de digestión y solubilización pueden provocar diferencias en los resultados, por lo que se han

realizado estudios que cubren estos aspectos (1,2). Igualmente, la longitud de onda óptima para la lectura fotométrica ha sido estudiada (2,3).

El método fotométrico requiere que los patrones de Cr sean corregidos por posibles interferencias en la lectura debido a otros compuestos presentes en las muestras. De esta manera, las soluciones patrón y blancos deben contener al momento de su análisis una porción de alimento o heces (acorde a la muestra por ser analizada) obtenida previa a la incorporación/aparición de Cr en el alimento o heces (2,3). No obstante este conocimiento, aún no se ha evaluado si las heces provenientes de animales diferentes tendrán una misma interferencia en la lectura fotométrica, evitando con ello que una sola porción de heces pudiera servir como blanco de corrección para varios animales.

El poder utilizar una única muestra de heces en el patrón de calibración tendría la ventaja de acelerar el trabajo analítico. El objetivo del presente trabajo fue evaluar el efecto de la fuente de heces en la calibración de una curva patrón de cromo.

MATERIALES Y MÉTODOS.

Origen de las heces:

Se utilizaron 4 vacas lactantes ($86 \pm \text{DE}$ 22.8 d lactancia) con un peso vivo promedio de 424.1 kg ($\text{DE} \pm 19.0$). Las vacas fueron alimentadas *ad libitum* con pasto Taiwán picado (*Pennisetum purpureum*), y suplementadas al momento de la ordeña con 2.0 ± 0.1 kg Materia Seca de uno de los siguientes suplementos: A).- sorgo/pasta de soya (14% Proteína cruda); B).- ramón (*Brosimum alicastrum*) aportando 33% del contenido de N del suplemento; C) ramón aportando 66% del contenido de N del suplemento; D) sin suplemento, únicamente se proporcionó 0.5 kg de sorgo al momento de la ordeña para facilitar el manejo del animal.

De esta manera, se obtuvo de un gradiente

Medición de cromo en heces bovinas.

de calidad en las heces, desde una dieta con suplemento de buena calidad (A), dietas con suplemento de mediana calidad y fibroso (B y C), hasta una dieta tradicional basada en pasto (D).

Preparación de curvas de calibración:

Se utilizó la metodología de Fenton y Fenton (2) para la determinación de Cr. Se prepararon curvas de calibración utilizando como puntos de referencia soluciones patrón de 1, 3, 5 y 7 mg Cr L⁻¹. Se prepararon dos curvas de calibración por cada fuente de heces, a las cuales se les añadió las cenizas resultantes de la incineración y solubilización ácida de 1 g MS de heces. Las lecturas fotométricas se llevaron a cabo en un espectrofotómetro a 415 nM (Beckman DU 650). Todos los puntos de cada curva se prepararon por duplicado.

Análisis estadístico:

Las lecturas fotométricas fueron utilizadas para elaborar curvas de calibración mediante el procedimiento de regresión lineal. La curva fue analizada para verificar su linealidad; finalmente, las pendientes e interceptos fueron comparados entre sí empleando el paquete computacional GraphPad Prism 2.01 (4).

RESULTADOS.

En el cuadro 1 se presentan los resultados del análisis de las curvas de calibración. Las cuatro curvas de calibración elaboradas resultaron con la misma pendiente ($p > 0.05$). Sin embargo, los interceptos encontrados presentaron una variación mínima aunque esta fue significativa ($p < 0.001$). Las curvas de calibración fueron rectas casi perfectas y no difirieron de la linealidad ($p > 0.05$). La

Cuadro 1
Coefficientes de regresión lineal para la curva de calibración de Cromo utilizando heces de cuatro animales para la preparación de la solución patrón.

Variables	Animal y dieta				P
	124 (B)	134 (C)	148 (A)	79 (D)	
Pendiente (SE)	0.137a	0.138a	0.138a	0.139a	0,45
	(0.0003)	(0.0013)	(0.0005)	(0.0004)	
Intercepto (SE)	0.013a	0.010a	0.002b	0.007a	0,001
	(0.0014)	(0.0062)	(0.0022)	(0.0018)	
r ²	0,9999	0,9994	0,9999	0,9999	0,001
Residuales					
Sobre la línea	4	2	4	4	
Debajo la línea	4	6	4	4	
Corridas	3	3	3	4	
Prueba de no linealidad	0.1143	0.2857	0.1143	0.3714	
Absorbancia	Concentración de Cromo* (mg/l)				
0.25	1.73	1.74	1.8	1.75	
0.5	3.55	3.56	3.62	3.55	
0.75	5.37	5.38	5.44	5.35	

* Concentración estimada considerando la absorbancia indicada y los coeficientes de regresión obtenidos para cada animal.

Valores con literal diferente en la misma línea difieren $p < 0.001$

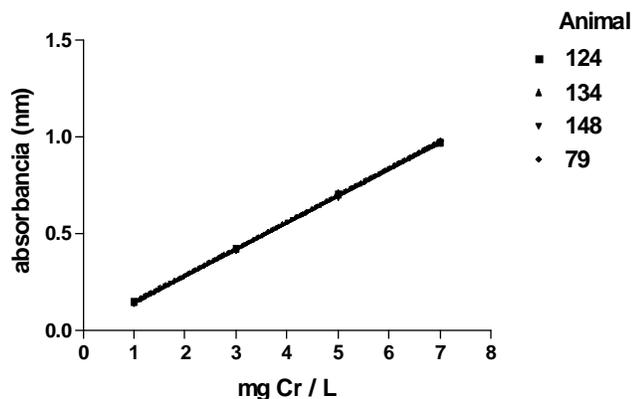


Figura 1.- Curva de calibración para análisis de Cr empleando heces de 4 fuentes diferentes (media \pm e.e.m.)

comparación visual de las cuatro curvas de calibración se presenta en la figura 1, donde se presentan los valores medios de las observaciones con sus correspondientes errores estándares.

DISCUSIÓN.

Considerando que en el análisis de Cr por el método fotométrico la pendiente muestra una alta sensibilidad a interferencias en la lectura óptica por sustancias encontradas en las muestras (2,3), el haber encontrado en las curvas de calibración del presente estudio una alta linealidad y pendientes iguales, proporcionó un alto grado de confianza en su sensibilidad al Cr presente en la solución patrón. Igualmente esta situación demostró que no existieron interferencias relacionadas con el origen de las heces. El resultado del análisis proporcionó un alto grado de confianza en que la preparación de la curva de calibración fue realizada adecuadamente y con procedimientos similares, ya que la pendiente ha sido reportada tan sensible a cambios en la concentración y tipo de ácido utilizado en la digestión, así como a la cantidad y tipo de muestra analizada (2) que,

generalmente, no es posible utilizar muestras de alimentos, heces o digesta duodenal indistintamente (5).

Sin embargo, la diferencia encontrada en el intercepto pareciera señalar que alguno de los elementos contenidos en las heces pudo provocar una pequeña interferencia en la lectura, ocasionando un incremento en la lectura de absorbancia, como ya ha sido señalado con anterioridad por Czarnocki y col. (3) y Fenton y Fenton (2). Esta diferencia encontrada es la que pudiera afectar las estimaciones de Cr derivadas de curvas de calibración que utilizaran fuentes diversas de heces como material para corregir los blancos de reactivos. No obstante, la magnitud de la diferencia provocada en la concentración estimada de Cr por efecto de los diferentes interceptos encontrados, utilizando los coeficientes de regresión obtenidos para cada animal no fue de relevancia práctica (cuadro 1). Se observó que con lecturas dentro del intervalo de una curva de calibración normal (0.250-0.750), las diferencias encontradas fueron de c.0.08mg/L entre la menor y mayor concentración de Cr calculada. Esto carece de relevancia práctica dado que en estudios donde se utiliza el Cr normalmente se trabaja con concentraciones mayores y la menor concentración esperada (deseable) sería mayor a 1 mg/L.

Así, en la preparación de curvas de calibración para la determinación de cromo en heces, la fuente de excretas bovinas para la elaboración de la curva de calibración puede ser uno o varios animales sin que esto afecte los resultados.

AGRADECIMIENTOS.

El presente trabajo fue parcialmente financiado por el proyecto: CONACYT : I 27369-B

REFERENCIAS.

- 1.- Mir PS, Kalnin CM, Garvey SA. Recovery of fecal chromium used as a digestibility marker in cattle. *J Dairy Sci* 1989; 72: 2549-53.
- 2.- Fenton TW, Fenton M. An improved procedure for the determination of chromic oxide in feed and faeces. *Can J Anim Sci* 1979; 59: 631- 4
- 3.- Czarnocki J, Sibbald IR, Evans EV. The determination of chromic oxide in sample of feed and excreta by acid digestion and spectrophotometry. *Can J Anim Sci* 1981; 4: 167- 79
- 4.- GraphPad Software Inc. GraphPad Prism 2.01. User's guide. San Diego, CA. USA. 1994-1995.
- 5.- Kozloski GV, de Moraes F EM, Martins AF. Use of chromium oxide in digestibility studies: variations of the results as function of the measurement method. *J Sci Food Agric* 1998; 76: 373- 6