

RESPUESTA DE LA PROTEÍNA A LA EXTRUSIÓN DE UN PIENSO COMPLETO, EVALUADA POR PRUEBAS DE CRECIMIENTO, BALANCE Y SACRIFICIO CON RATAS

Pérez-Calvo, E.¹, Castrillo, C.¹, Baucells, M.D.² y de la Fuente, G.¹

¹Departamento de Producción Animal y Ciencia de los Alimentos. Universidad de Zaragoza. Miguel Servet, 177. 50013 Zaragoza. ccastri@unizar.es. ²Grup de Reserca Nutrició, Maneig i Bienestar Animal. Universitat Atónoma de Barcelona. 08193 Bellaterra, Barcelona.

INTRODUCCIÓN

El valor proteico de los alimentos para monogástricos está íntimamente relacionado con su contenido en aminoácidos y la disponibilidad de éstos. No obstante, desde principios del siglo XX, se han propuesto numerosos métodos de valoración basados en el estudio de la respuesta, ya sea en términos de crecimiento, o de utilización y retención del nitrógeno determinados por pruebas de balance o de sacrificio, siendo la rata el animal más utilizado. A partir de pruebas de crecimiento puede determinarse la eficiencia con que la proteína es utilizada para promover la ganancia en peso de los animales (PER, razón de eficiencia proteica) o para su mantenimiento y crecimiento conjuntamente (NPR, razón proteica neta). A partir de pruebas de balance entre la ingesta y las excretas de nitrógeno, se puede estimar la digestibilidad de la proteína y su valor biológico (VB), y la utilización proteica neta (UPN) como producto de ambos. La UPN puede ser estimada también mediante pruebas de sacrificio (Miller y Bender, 1955). Aunque todos estos métodos tratan de medir la eficiencia con que es utilizado el nitrógeno de la dieta, cada uno de ellos tiene sus ventajas e inconvenientes metodológicos. Por ejemplo, el incremento de peso y la retención de nitrógeno están estrechamente relacionados, pero la relación puede venir afectada por variaciones en la composición de las ganancias, y la dificultad de la colecta total de heces y excretas en los métodos de balance hace que generalmente se incurra en una sobreestimación del VB y la UPN.

El objetivo de este trabajo fue comparar distintos índices obtenidos mediante pruebas biológicas en ratas, para evaluar la respuesta a proteínas de diferente calidad (caseína frente a la proteína de un pienso convencional para perros formulado con cereales y harina de ave) y la respuesta al efecto de la extrusión del pienso.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se utilizaron 36 ratas Windstar macho de entre 21 y 28 días de edad, con $44,1 \pm 2,79$ g de peso vivo, y 4 dietas experimentales: una de ellas libre en proteína (control negativo), y las otras tres con un 10% de proteína bruta (PB), aportada por caseína o un pienso convencional de perros, formulado en base a cereales y harina de ave, sin extrusionar (PNE) o extrusionado (PE). Además de la fuente proteica, las dietas contenían aceite de soja, celulosa, almidón de maíz, sacarosa, vitaminas y minerales en proporciones adecuadas para cubrir sus necesidades (NRC, 1978). Se llevaron a cabo 3 periodos experimentales de 12 días cada uno, utilizando 3 ratas por tratamiento en cada uno de ellos, distribuidas en jaulas metabólicas individuales. Las dietas se ofrecieron *ad libitum* a lo largo de todo el periodo experimental durante el cual se realizaron 2 balances de nitrógeno de forma consecutiva, de 5 días cada uno. En cada uno de los balances se determinó la digestibilidad real (Dr) y el valor biológico real (VBr) de la proteína, y con esos valores se calculó la UPN real media de cada periodo experimental:

$$UPNr = Dr \times VBr = ((NI - (Nh - NMF)) / NI) \times ((NI - (Nh - NMF) - (No - NEU)) / (NI - (Nh - NMF))) = (NI - Nh - No + (NMF + NEU)) / NI = (NR + (NMF + NEU)) / NI,$$

donde, NI, es el nitrógeno ingerido; Nh y No, es el nitrógeno excretado por heces y orina, respectivamente, obtenido mediante colección diaria durante los 2 balances; NMF, es el nitrógeno metabólico fecal calculado como el Nh de las ratas alimentadas con la dieta libre en proteína, corregido por la materia seca ingerida (MSI) de las ratas alimentadas con las dietas problema; NEU, es el nitrógeno endógeno urinario, calculado como el No de las ratas alimentadas con la dieta libre en proteína, corregido por el peso vivo metabólico ($PV^{0,75}$), y NR, representa el nitrógeno retenido por el animal.

Se determinó también el PER y la NPR en cada uno de los periodos experimentales, mediante el pesaje de los animales al inicio y al final de cada periodo:

PER= ganancia de peso vivo /NI

NPR= (ganancia de peso vivo de las ratas alimentadas con las dietas con proteína + pérdida de peso vivo de las ratas alimentadas con la dieta libre de proteína)/NI

Al final de cada periodo experimental los animales fueron sacrificados siguiendo el protocolo de eutanasia recomendado por el Comité Ético de la Universidad de Zaragoza, y se determinó el contenido total en nitrógeno del cuerpo vacío de las ratas, para calcular la UPNr de acuerdo con Miller y Bender (1955):

UPNrs = NA-NB/NI = NR+((NMF+NEU))/NI,

donde, NA es el contenido en nitrógeno total de las ratas alimentadas con las dietas con proteína y NB es el contenido en nitrógeno total de las ratas alimentadas con las dietas sin proteína, corregido por el peso medio inicial de las ratas que recibieron las dietas con proteína.

Los contenidos en materia seca y nitrógeno de las muestras de alimentos, heces, orina y el cuerpo de las ratas se determinaron según los procedimientos de la AOAC (2000). Los resultados obtenidos se sometieron a análisis de varianza, atendiendo a un diseño en bloques al azar, considerando los periodos como bloques, y la significación estadística de las diferencias entre los valores medios de cada periodo experimental se establecieron mediante el test de Tukey. Se establecieron también relaciones entre los distintos parámetros estudiados. Los análisis de varianza se llevaron a cabo mediante el procedimiento GLM y las relaciones se establecieron mediante el procedimiento REG del programa estadístico SAS (2000).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la Tabla 1 se muestran los resultados medios de valores de PER, NPR y UPN obtenida por el método de balance (UPNr) y por el método de sacrificio (UPNrs), para cada una de las dietas a estudio. Como era de esperar, por tratarse de una proteína de muy alta calidad, todos los índices de valor proteico estudiados fueron significativamente superiores en la dieta con caseína que en las dietas en las que se utilizó pienso de perros como fuente de proteína. La dieta que incluyó el pienso sin extrusionar mostró también mayores valores de PER, NPR y UPNr que la dieta que incluyó el pienso extrusionado (4,2%, 5,4%, y 10,0%, respectivamente), aunque las diferencias sólo fueron significativas en el caso de la UPNr obtenida por el método de balance. Estos resultados ponen en evidencia el efecto negativo que la aplicación de calor y presión en el proceso de extrusión puede tener sobre la disponibilidad de algunos aminoácidos esenciales, caso de la lisina (Moughan y Rutherford, 1996). Sin embargo, cuando se estimó la UPN por el método de sacrificio, la dieta no extrusionada mostró un valor inferior (14,4%, $P>0,05$) que la dieta extrusionada. Por otra parte, la UPNrs fue, en todas las dietas, cuantitativamente menor que la UPNr, lo cual puede estar en parte relacionado con una posible pérdida de heces y orina durante los balances. Henry (1965) obtuvo valores de UPNrs para la caseína (0,743) similares a los obtenidos en este trabajo (0,735) e inferiores a la UPNr estimada por balance. No obstante, los valores medios de UPNrs obtenidos con las dietas PNE y PE (0,375 y 0,429, respectivamente) son también muy bajos, teniendo en cuenta que la proteína del pienso de perros era aportada a partes iguales por cereales y harina de ave. Por otra parte, la UPNrs mostró mayor coeficiente de variación (10,8%) que la UPNr (6,9%).

Los valores obtenidos con todos los métodos estudiados estuvieron significativamente correlacionados ($p<0.001$). Así, los valores de PER y NPR estuvieron altamente correlacionados con los valores de UPNrs ($r=+0,822$ y $+0,811$, respectivamente), aunque las relaciones lineales entre dichos parámetros mostraron coeficientes de variación (CV) elevados (19,9 y 20,4 %, respectivamente). La correlación entre los valores de PER y NPR con los de UPNr fue ligeramente inferior ($+0,726$ y $+0,724$, respectivamente), si bien las relaciones lineales entre dichos parámetros mostraron menores CV (14,4% en ambos casos). La relación entre los valores de UPNr y UPNrs, vino definida por la ecuación: $UPNrs = 1,073 (\pm 0,1714) UPNr - 0,1597 (\pm 0,1096)$ ($r = 0,781$, $RSD = 0,112$, $CV = 21,8\%$), con un

coeficiente de regresión no diferente de la unidad y una ordenada en el origen negativa (aunque no significativamente diferente de cero), lo que pone de manifiesto la subestimación de los valores UPNr en relación a los valores UPNr.

Los resultados obtenidos sugieren que todos los métodos e índices estudiados son suficientemente sensibles para poner en evidencia las diferencias en el valor proteico entre proteínas de muy elevada calidad (como la caseína) y proteínas de menor calidad (cereales y harina de aves). Los índices de crecimiento y balance de nitrógeno, también mostraron una respuesta cualitativa similar al efecto de la extrusión sobre el valor proteico de una mezcla de cereales y harina de ave, si bien el método de balance se mostró más sensible. El método de sacrificio, en las condiciones en las que se desarrolló en este experimento, mostró menor sensibilidad y mayor variabilidad, y ofreció valores de eficiencia de utilización de la proteína más bajos de los esperados.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AOAC, 2000. ● Henry, K.M. 1965. Brit.J.Nutr. 19: 125-135. ● Miller, D.S. & Bender, A.E. 1955. Br. J. Nutr. 9: 382-388. ● Moughan, P.J. & Rutherford, S.M. 1996. J. Agri. Food Chem. 44: 2202-2209. ● NRC, 1987. ● SAS, 2000.

Tabla 1. Efecto del tipo de proteína (caseína, pienso de perros no extrusionado, PNE, y pienso de perros extrusionado PE) sobre la razón de eficiencia proteica (PER), la retención proteica neta (NPR) y la utilización proteica neta (UPN) aparente (UPNa) y real (UPNr), determinada por distintos métodos.

Método	Índice	Caseína	Dieta PNE	PE	e.e.	P
Crecimiento	PER	3,061a	2,169b	2,082b	0,1009	***
	NPR	3,579a	2,604b	2,471b	0,1001	***
Balance	UPNr	0,790a	0,572b	0,520c	0,0144	***
Sacrificio	UPNrs	0,735a	0,375b	0,429b	0,0184	***

Dentro de cada fila, medias con distinta letra difieren significativamente ($P < 0,05$), test de Tukey. ***, $P < 0,001$

Agradecimientos: Este trabajo ha sido cofinanciado por la empresa ALEXAN ARTESA S.L.

RESPONSES TO PROTEIN EXTRUSION OF A COMMERCIAL DRY DOG FOOD EVALUATED BY GROWTH, NITROGEN BALANCE AND CARCASS RETENTION TRIALS IN RATS

ABSTRACT: Nutritive responses to different protein sources (casein vs. cereals and poultry meal) and process (unextruded vs. extruded) were evaluated with rats by different methods: growth (protein efficiency ratio, PER and net protein ratio, NPR), nitrogen balance (net protein utilisation, NPUr) and body nitrogen retention (NPUrs). All of the studied protein value indexes were higher ($P < 0.001$) with casein diet than with cereal and poultry meal, whereas NPUr ($P < 0.05$), and PER and NPR ($P > 0.05$) decreased after extrusion. By contrast, NPUrs increased numerically ($0.10 > P > 0.05$) with protein extrusion. Nevertheless, PER and NPR were highly correlated with UPNrs ($r = +0.822$ and $+0.811$, respectively) and UPNr ($r = +0.726$ and 0.724 , respectively). There was also relatively good agreement between NPUrs and NPUr ($r = +0.781$, $CV = 21.8\%$), although the former index was higher than the latter. In conclusion, all of the methods detected differences between casein and a lower quality protein mix, but only nitrogen balance method showed a clear response to extrusion effect.

Keywords: protein quality, extrusion, nitrogen balance, protein efficiency ratio, rats.