EFECTO DE LA FUENTE DE FIBRA SOBRE LA ACTIVIDAD ENZIMÁTICA DE LA AMILASA PANCREÁTICA Y LAS SACARASAS EN YEYUNO E ILEON

A.I.García, J.García, C. de Blas, J.Piquer y R. Carabaño

Departamento de Producción Animal. ETSI Agrónomos. UPM. 28040.Madrid

Introducción

Las altas necesidades de fibra en conejos (35% de FND) (de Blas *et al.*, 1995) justifican la inclusión en las dietas de un elevado número de materias primas fibrosas con características químicas y físicas muy diferentes. En conejos, al igual que en otros monogástricos, se ha observado que el tipo de fibra afecta a la morfología de la pared intestinal (longitud de los villi, profundidad de las criptas) (Chiou *et al.*, 1994). Este hecho podría afectar a la maduración de las células de la mucosa intestinal y por tanto a la secreción enzimática. Según sugieren distintos autores, facilitar la digestión total del almidón antes del ciego puede ser importante para evitar la aparición de diarreas en conejos (Borriello y Carman, 1983). Por ello el objetivo de este trabajo ha sido estudiar el efecto de la fuente de fibra sobre la actividad de enzimas relacionadas con la hidrólisis del almidón.

Material y métodos

Dietas. Los piensos fueron diseñados para que todo su contenido en fibra procediese de la materia prima objeto de estudio. Para ello se elaboraron incluyendo un 75% de la fuente de fibra estudiada (torta de pimentón, heno de alfalfa y hoja de olivo) o un 62% (cascarilla de soja, cascarilla de girasol y paja tratada con sosa), que se completaba con un 20 y un 33% de concentrado (harina de trigo y concentrado proteico purificado de soja) respectivamente. La composición química de los piensos se muestra en la Tabla 1.

Animales. Un total de 36 conejos machos y hembras de Neozelandés blanco x Californiano, con un peso medio de 2254 g, fueron asignados al azar a las 6 dietas, a razón de 6 animales por dieta.

Período experimental. Los animales se alojaron en jaulas individuales en una nave de ambiente controlado. Estos animales fueron alimentados *ad libitum* durante todo el experimento y estuvieron sometidos a un período de 12h luz-12h oscuridad. Después de 14 días de adaptación a la dieta, los animales fueron sacrificados entre las 20 y 24h con el fin de evitar el período de excreción de heces blandas . El día del sacrificio los animales tenían unos pesos medios de 2693, 2852, 2615, 2826, 2646, 2595 g para las dietas de cascarilla de girasol (CG), cascarilla de soja (CS), torta de pimentón (Pi), heno de alfalfa (A), hoja de olivo (HO) y paja tratada con sosa (PS), respectivamente. El consumo de pienso se controló semanalmente y el día anterior al sacrificio. Una vez sacrificados los animales, se separó el intestino delgado del resto del aparato digestivo y se recogieron muestras de páncreas, duodeno, yeyuno e ileon, para ello, se dividió el intestino delgado, en tres partes iguales de cuyas zonas centrales se cortaron 6-7 cm de muestra que, después de limpiarlas con una solución salina, eran congeladas en nieve carbónica. Previamente a la división del intestino, se extrajo el páncreas completo.

Técnicas Analíticas. La FND, FAD y la LAD se analizaron secuencialmente de acuerdo a la metodología propuesta por Van Soest *et al.* (1991). Los procedimientos descritos por la AOAC (1984) para la MS y PB de las dietas. El tamaño de partícula se determinó por duplicado mediante tamizado en húmedo (García *et al.*, 1996)

Para el análisis de la actividad enzimática las muestras debieron ser previamente diluidas y homogeneizadas. La actividad amilásica pancreática se midió empleando un kit Sigma (Procedimiento

No. 577), en el que se mide la actividad de la amilasa (EC 3.2.1.1) mediante la liberación de Pnitrofenol por minuto a 30° C. La absorbancia se mide a 405 nm. La proteína del páncreas y del intestino se determinó con el kit Sigma (Procedimiento No.P 5656) basado en la técnica de Lowry modificada por Peterson (1977). La actividad de las sacarasas intestinales se midió utilizando sacarosa como sustrato. La glucosa liberada por las sacarasas en 30 minutos a 37°C fue medida por el método de la glucosa oxidasa-peroxidasa.

Análisis estadístico. El efecto del tipo de fibra de la dieta sobre la actividad enzimática amilásica y de las sacarasas intestinales, se estudió mediante regresión. Se realizaron análisis de correlación y regresión paso a paso utilizando los procedimientos CORR y REG del programa estadístico SAS (Statistical Analysis System, 1985). Las variables independientes incluidas en estos análisis son las que figuran en la tabla 1. Debido a que uno de los conejos alimentados con la dieta Pi murió durante el período de adaptación, el número de datos utilizados en el análisis estadístico fue de 5.

Resultados y discusión

En la Tabla 2 se muestran las medias y las desviaciones típicas del consumo del día anterior al sacrificio, de la actividad enzimática de la amilasa pancreática y de las sacarasas en yeyuno e íleon.

A pesar de observar variaciones entre piensos del 25%, ni la actividad específica de la amilasa pancreática ni el contenido en proteína del páncreas se correlacionó significativamente con ninguna de las variables estudiadas mostrando medias de 1484 unidades/g proteína y de 6,6 mg/100 g tejido, respectivamente. Tampoco se encontró correlación entre la actividad específica de la amilasa con el consumo diario de almidón. Estos resultados son contradictorios con los obtenidos por Blas (1986) quien observó un aumento en la actividad de la amilasa pancreática con el aumento del almidón en el pienso.

La actividad específica de las sacarasas del yeyuno se mostró 3,4 veces superior de media a la de las sacarasas del íleon. Sin embargo, la proteína intestinal fue similar en ambos casos (8,8 y 9,1 mg/100 g tejido de media, respectivamente). No se encontró correlación significativa entre las variables químicas o físicas del pienso con la actividad específica de las sacarasas en yeyuno o con su contenido en proteína. Por el contrario, la actividad específica de las sacarasas del íleon se correlacionó negativamente con el contenido en LAD de la dieta ($r = -0,466$, $P = 0,0062$). Los piensos que incluían cascarilla de girasol, hoja de olivo y torta de pimentón mostraron los valores más bajos de actividad sacarásica. Estos resultados concuerdan con la reducción de la altura de los villi observado en íleon cuando se sustituye alfalfa por lignina (Chiou *et al.*, 1994). La proteína del íleon no se correlacionó significativamente con ninguna de las variables estudiadas.

Referencias

AOAC 1984. Official Methods of Analysis (14th Ed.). Association of Official Analytical Chemists, Arlington, VA.

Blas, E. 1986. El almidón en la nutrición del conejo: utilización digestiva e implicaciones prácticas. Tesis Doctoral. Facultad de Veterinaria. Universidad de Zaragoza.

Borriello , R.J. y Carman, S.P. 1983. J. Clin. Microbiol. 17, 414-418.

Chiou, P.W.S., Yu, B.and Lin, Ch. 1994. Comp. Biochem.Physiol. 108A, 629-638.

de Blas, J.C., Taboada, E., Mateos, G.G., Nicodemus, N. y Méndez, J. 1995. J. Anim. Sci. 73, 1131-1137.

García, J., Carabaño, R., Pérez-Alba, L., y de Blas, C. 1996. Proc. 6th World Rabbit Congress. Touolouse. Vol 1, 175-179.

Peterson, G.L. 1977. Anal. Biochem. 83, 346.

Van Soest, P.J., Robertson, J.B. y Lewis, B.A. 1991. J. Dairy Sci. 74, 3583-3597.

SAS 1985. SAS user's guide:Statistics. SAS Institute. Cary. NC.

Tabla 1. Composición química de los piensos (% sobre MS)

PIENSOS(1)	Pi	CS	A	PS	CG	HO
FND	28,7	36,8	36,3	44,1	52,5	33,3
FAD	21,9	24,3	23,9	27,4	36,9	20,6
LAD	12,5	2,1	6,8	3,7	12,6	11,6
Tamaño de partícula						
> 1.25mm	0	2,3	1,6	6,8	2,8	7,1
< 0.315mm	94,9	67,1	78,5	66,8	54,2	71,6
PB	20,1	22,6	19,5	19,5	18,8	18,7
Almidón	10,8	14,.6	10,8	12,8	12,8	5,5
MS	84,8	88,3	88,0	87,8	89,9	91,3

1:Pi:torta de pimentón; CS:Cascarilla de soja; A: Heno de alfalfa; PS:Paja tratada con NaOH; CG Cascarilla de girasol; HO; Hoja de olivo

Tabla 2. Medias y desviación típica (entre paréntesis) del consumo de pienso, de la actividad específica de la amilasa del páncreas y de las sacarasas en yeyuno e íleon.

	Pi	CS	A	PS	CG	HO
Consumo de MS (g/d)	149	167	187	189	180	206
	(23,4)	(18,4)	(14.6)	(16.0)	(23.4)	(14.0)
Amilasa Pancreática						
Actividad específica [1]	1579	1662	1478	1379	1306	1532
Proteína [2]	(156)	(252)	(264)	(451)	(448)	(450)
	6,2 (0,5)	6,1 (1,0)	6,7 (0,5)	7,5 (1,2)	6,2 (1,2)	6,7 (1,1)
Sacarasas yeyuno						
Actividad específica [3]	4444	4332	4355	5556	4092	4091
Proteína [2]	(1415)	(1721)	(1047)	(1296)	(1160)	(851)
	8,0 (1,5)	9,4 (0,9)	8,5 (1,7)	8,3 (1,4)	9,0 (1,4)	9,7 (1,0)
Sacarasas Íleon						
Actividad específica [3]	1006	1514	1512	1665	1084	1113
Proteína [2]	(354)	(626)	(673)	(565)	(182)	(297)
	10 (2,1)	9,2 (2,1)	9,3 (1,0)	8,7 (1,2)	8,2 (2,1)	9,5 (2,1)

[1]unidades (mmol P-nitrofenol liberado)/g proteína en un minuto a 30ºC; [2] mg/100 g tejido; [3]mmoles de glucosa liberados/g de proteína en 30 minutos