

✓ Valoración nitrogenada de productos de soja y harinas de girasol en conejos

LLORENTE A., GARCÍA A.I., NICODEMUS N., VILLAMIDE M.J., CARABAÑO R.

Dpto. Producción Animal, E.T.S. Ingenieros Agrónomos, U.P.M. 28040 Madrid

mvillamide@pan.etsia.upm.es

■ RESUMEN

El objetivo de este trabajo es determinar la digestibilidad ileal corregida por pérdidas endógenas de productos de soja y harinas de girasol en conejos. Para ello se utilizaron 28 conejas de raza Neocelandés x Californiano, con un peso medio de 4768 g (± 421 g), canuladas en íleon terminal con una cánula simple en T de vidrio. Se formularon 5 dietas experimentales, con el máximo nivel de inclusión posible de cada alimento (35 y 30 % para las harinas de girasol y productos de soja en los experimentos 1 y 2, respectivamente) y una dieta basal con caseína, para la determinación de pérdidas endógenas a nivel fecal e ileal. En el experimento 1, la digestibilidad ileal verdadera (DIV, 89.3%) de la proteína de las harinas de girasol fue superior a la digestibilidad fecal (DFA) e ileal aparentes (DIA) en 2.6 y 8.8 puntos, respectivamente, debido a que las pérdidas endógenas determinadas a nivel ileal fueron mayores que a nivel fecal (3.2 g PB/d vs. 2.5 g PB/d). No se encontraron diferencias significativas entre las dos harinas de girasol estudiadas en ninguna de estas unidades. En el experimento 2, la DIA y la DIV de la PB de la harina y el haba de soja resultaron superiores ($P=0.0001$) a las de la cascarilla (85.3 vs. 23.9%, respectivamente, en DIA y 93.0 vs. 46.5%, respectivamente, en DIV). La diferencia entre DIV y DIA fue mucho mayor en el caso de la cascarilla que en el del haba y la harina (22.6 vs. 8.7 y 6.8, respectivamente), debido a la mayor importancia cuantitativa de la proteína de origen endógeno. El valor relativo, respecto a la harina de soja, del haba y la cascarilla aumentó 3 y 22 puntos, respectivamente, al corregir por pérdidas endógenas la DIA de la PB. La DIA y DIV de la PB de la harina de soja resultaron significativamente superiores ($P=0.0003$ y $P=0.0158$, respectivamente para cada unidad) a la de la harina de girasol 38 en 6 puntos de media. Como conclusión, la DFA y la DIA subvaloran la digestibilidad de la proteína respecto a la DIV. Además, la digestibilidad de la proteína depende del origen botánico y del procesado de la semilla.

■ ABSTRACT

The aim of this work is to determine the true ileal digestibility (TID) of sunflower meals and soybean products. Therefore, 28 New Zealand White x Californian doe rabbits weighing 4768 ± 421 g each fitted with a glass T-cannula at terminal ileum level were used. Five diets were formulated to contain a maximum level of each feedstuff (35 and 30% of sunflower meals and soybean products, respectively) and a casein-basal diet for determination of endogenous losses. In the experiment 1, the TID of protein of both sunflower meals (89.3%) was 2.6 and 8.8 points on average higher than the apparent faecal (AFD) and ileal digestibility (AID), respectively. These results could be explained due to higher endogenous losses at ileal level than at faecal level (3.2 vs. 2.5 g CP/d). There were no significant differences among CP digestibility of both meals. In the experiment 2, the AID and TID of CP of soybean meal and full-fat soybean were higher ($P=0.0001$) than that of soybean hulls (85.3 vs. 23.9%, respectively using AID and 93.0 vs. 46.5%, respectively, using TID). Difference between TID and AID values was higher in soybean hulls than in meal and full-fat soybean (22.6 vs. 8.7 and 6.8, respectively), due to the highest importance of endogenous protein. The relative value, respect to the soybean meal, of full-fat soybean and hulls increased 3 and 22 points, respectively, when the CPAID values were corrected by endogenous losses. The AID and TID of CP of soybean meal were 6 points on average higher than AID and TID of CP values of sunflower meal 38 ($P=0.0003$ and $P=0.0158$, respectively for each unit). In conclusion, the use of AFD and AID methods lead to underestimation of the ileal utilization of nitrogen content of the feedstuffs compared with TID method. Moreover, protein digestibility is depending on botanic origin and thermal treatments of seed.

■ INTRODUCCIÓN

La digestibilidad fecal ha sido el método más utilizado en la estimación del valor nitrogenado de los alimentos y en la determinación de las necesidades nutritivas hasta el momento. Sin embargo, el ileon es el último segmento del tracto digestivo en el que los aminoácidos pueden ser absorbidos. Por ello, en otras especies monogástricas (porcino y aves), la digestibilidad a nivel ileal se ha propuesto como método más preciso en la valoración nitrogenada. La corrección de la digestibilidad ileal aparente (DIA) por pérdidas endógenas da lugar a una nueva unidad (digestibilidad verdadera (DIV) o estandarizada (DIS)) que permite estimar con mayor exactitud la digestibilidad real de la proteína de los alimentos. En conejos, aunque los aminoácidos que no han sido absorbidos a nivel ileal pueden ser utilizados a través de la ingestión y digestión de los cecotrofos, la DIV es también la unidad más precisa en la valoración nitrogenada. Tomando la DIV como unidad de referencia, García et al. (2004) determina que los coeficientes de digestibilidad ileal y fecal aparentes subestiman la digestibilidad de la proteína en un 13.8% y 7.7% de media respectivamente, debido a la importancia del nitrógeno de origen endógeno sobre el flujo fecal e ileal de proteína. El uso de la DIV en la formulación práctica de piensos de conejos supondría un mejor ajuste de los nutrientes a las necesidades del animal y una reducción de la excreción de nitrógeno al medio. Sin embargo, la escasa disponibilidad de datos limita la utilización de este método. El objetivo de este trabajo es determinar la digestibilidad ileal corregida por pérdidas endógenas de productos de soja y girasol, semillas de oleaginosas usadas habitualmente como principales fuentes de proteína en dietas de conejos.

■ MATERIAL Y MÉTODOS

Alimentos y piensos

Se valoraron tres productos de soja (harina de soja, haba de soja y cascarilla de soja) y dos harinas de girasol de distinto contenido en proteína (harina de girasol 28 y 38), cuya composición química expresada en porcentaje sobre MS se muestra en la Tabla 1.

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

	Harina soja	Haba soja	Cascarilla soja	Harina girasol 28	Harina girasol 38
PB (% MS)	54.3	42.66	16.52	31.12	42.11
FND (% MS)	24.61	20.15	63.45	45.80	37.59
FAD (% MS)	14.44	13.49	47.65	36.77	29.22
LAD (% MS)	1.52	2.84	2.60	12.5	9.40

Se formuló una ración basal, similar a la utilizada por García et al. (2004), para la determinación de las pérdidas endógenas de proteína a nivel ileal (Llorente et al., 2005) y fecal. Se optó por una ración basada en la inclusión de proteína altamente digestible (caseína), para evitar los problemas de baja ingestión y trastornos fisiológicos que conlleva la utilización de dietas libres de nitrógeno (García et al., 2004). Fue necesario incluir paja tratada con sosa y cascarilla de girasol para conseguir la cantidad y tamaño de fibra adecuado para el tránsito digestivo, ya que el resto de fuentes de fibra (celulosa y pectinas) eran de origen sintético. Se incluyeron pectinas sintéticas para aportar un mínimo de sustrato fermentable que asegurase el mantenimiento de una actividad microbiana adecuada en el ciego. La introducción de paja y cascarilla de girasol en la ración supuso un pequeño aporte de proteína, pero muy indigestible al estar en su mayoría ligada a fibra neutro detergente (65% y 64% de la proteína de paja y cascarilla de girasol, respectivamente, está ligada a FND). Por tanto, en la determinación de las pérdidas endógenas y de la digestibilidad de la proteína de los alimentos, se corrigió el flujo ileal por el contenido de proteína ligada a FND, según se explica en el apartado de *Cálculos*.

En la formulación de los piensos experimentales (Tabla 2), se intentó mantener constante el contenido de proteína bruta y el nivel y tipo de fibra respecto a la ración basal, para que las pérdidas endógenas de proteína fuesen de la misma magnitud en todas las dietas. El porcentaje de inclusión de los alimentos a valorar (30% y 35% para los productos de soja y las harinas de girasol, respectivamente) fue el máximo posible, con el fin de minimizar el error en la determinación de la digestibilidad de su proteína. Todos los piensos experimentales cumplieron o excedieron las actuales recomendaciones alimenticias para conejas en produc-

ción y animales en crecimiento (De Blas y Mateos, 1998). Para las determinaciones a nivel ileal se utilizó como marcador indigestible yterbio mordanzado a la fibra (0.4%). La composición en materias primas y química de los piensos experimentales se muestra en la Tabla 2.

Tabla 2. Composición de los piensos experimentales (%)

	Harina soja	Haba soja	Cascarilla soja	Harina girasol 28	Harina girasol 38
Almidón	23	22	26	24	24
Caseína	3	5	13	8	5
Pectinas	5	3	4	5	5
Celulosa	7	7	3	7	7
Minerales, corrector y sepiolita	5.1	5.1	5.1	5.1	5.1
Aceite de soja	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5
Fibra marcada (Yb)	0.4	0.4	0.4	0.4	0.4
Paja tratada con NaOH	8	9	-	14	14
Cascarilla de girasol	17	17	17	-	3
Materia prima	30	30	30	35	35
Composición química I (%)					
ED (kcal)	2.661	2.922	2.641	2.604	2.677
PB	17.4	17.2	17.7	17.8	17.9
FND	31.4	31.1	32.5	30.9	31.0
FAD	24.3	24.6	26.0	24.5	24.2
LAD	4.6	5.1	4.4	4.7	4.5

¹Estimada a partir de la composición química de los alimentos.

Animales

Para determinar la digestibilidad fecal e ileal se utilizaron un total de 28 conejas de raza Neozelandés x Californiano con un peso medio de 4.768 g (± 421 g), canuladas en íleon terminal con una cánula T de vidrio (Gidenne et al., 1988). Para la valoración de los 5 alimentos fue necesario realizar 2 experimentos. Las conejas con un patrón de consumo muy bajo o alguna anomalía se retiraron de la prueba, utilizando 10 animales en el pienso de haba de soja y las harinas de girasol, 9 en el de harina de soja y 8 en el de cascarilla de soja.

Procedimiento experimental

Experimento 1: En este experimento se valoraron las harinas de girasol 28 y 38. Los animales se alojaron en jaulas individuales en una nave de ambiente semicontrolado. Los piensos experimentales se distribuyeron al azar entre los animales y se suministraron *ad-libitum*. Tras un período de adaptación a los mismos de 10 días, se realizó el control individual del consumo y la excreción de heces durante 3 días consecutivos para la determinación de la digestibilidad fecal. Las heces recogidas se congelaron a -20°C , se secaron en estufa a 60°C durante 48 horas y, por último, se molieron a 1 mm para su posterior análisis. Para la determinación de la digestibilidad ileal, el último día de recogida fecal y el día siguiente, se procedió a la recogida de contenido ileal durante una hora cada día. Las muestras se recogieron entre las 7 y las 11 de la noche para evitar la influencia de la cecotrofia sobre el flujo ileal, ya que el contenido en proteína bruta del flujo ileal en estas horas del día es similar al obtenido en animales que no realizan cecotrofia (Merino et al, 2003). Las recogidas ileales diarias se mezclaron para obtener una muestra representativa de cada animal, se almacenaron a -20°C y, posteriormente, se liofilizaron y molieron a 0.5 mm para su análisis.

Experimento 2: En este experimento se valoraron los productos de soja (harina de soja, haba de soja y cascarilla de soja). Se siguió el mismo procedimiento experimental que el explicado en el experimento 1.

Análisis

Para la determinación de MS y PB (combustión, método Dumas) se siguieron los procedimientos descritos por la AOAC (2000). El contenido de PB-FND de las fuentes de fibra del pienso basal y del contenido ileal de las conejas alimentadas con dicho pienso se determinó según Licitra (1996). La concentración de yter-

bio de los piensos y del contenido ileal se analizó en un espectrofotómetro de absorción atómica. Los datos de las digestibilidades se analizaron utilizando los piensos o los alimentos como efectos principales mediante el procedimiento GLM del paquete estadístico SAS (1990). Para la estimación de las pérdidas endógenas se utilizó el procedimiento REG del mismo paquete estadístico.

Cálculos

Las pérdidas endógenas fecales se calcularon restando a la excreción de proteína bruta de los animales que consumieron la dieta basal, la PB-FND aportada por la paja y la cascarilla de girasol (considerada totalmente indigestible) y asumiendo la caseína 100% digestible. Mediante análisis de regresión, se obtuvo una ecuación ($PB \text{ endógena(g/d)} = 0,0277 * MS \text{ ingerida(g/d)} - 0,1261$, $R^2=0.739$, $RSD=0.3862$), que permitió predecir la cantidad de proteína bruta excretada de origen endógeno. La digestibilidad fecal aparente (DFA) de la PB de las materias primas se calculó corrigiendo por las pérdidas endógenas fecales correspondientes a la parte de la dieta que no es materia prima y por el contenido en PB-FND de la paja y cascarilla de girasol de cada dieta experimental.

La determinación de la DIV de la PB de las dietas y de los alimentos se realizó mediante la diferencia entre el flujo ileal total de proteína y el flujo correspondiente a la suma de las pérdidas endógenas, obtenidas mediante la ecuación descrita por Llorente et al. (2005), más la PB-FND. La DIA se calculó a partir del flujo total ileal de PB corregido por la cantidad de PB-FND de la paja y la cascarilla de girasol y por la proporción de pérdidas endógenas correspondientes a la parte de la dieta que no fuese la materia prima valorada.

■ RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Experimento I

La DFA y DIA de la MS y de la PB de las dietas de harina de girasol se presentan en la Tabla 3. Los valores de digestibilidad obtenidos variaron de acuerdo a la composición química y en materias primas de las dietas y sólo se encontraron diferencias significativas en la DIA de la MS ($P=0.025$). A partir de estos datos se calcularon los valores de digestibilidad correspondientes a los alimentos estudiados.

Tabla 3. Digestibilidad aparente fecal e ileal (%) de la MS y la PB de las dietas de harina de girasol (medias \pm error estándar)

Dietas	Harina girasol 28	Harina girasol 38	SEM	P
	N	10		
Consumo MS (g/d)	132.2	106.7	9.64	NS
Digestibilidad ileal aparente MS (%)	48.0 ^b	53.0 ^a	1.45	0.025
Digestibilidad fecal aparente MS (%)	68.5	71.1	1.03	NS
Digestibilidad ileal aparente PB (%)	71.4	72.2	1.22	NS
Digestibilidad fecal aparente PB (%)	79.5	79.6	1.08	NS

La digestibilidad de la PB de la harina de girasol 38 (Tabla 4) resultó siempre superior a la de la harina 28, principalmente en el caso de la DIA (80.8 vs. 77.0), si bien estas diferencias no llegaron a ser significativas.

El coeficiente de DFA de la PB de las harinas de girasol 28 y 38 (85.8 y 87.7 %, respectivamente) se situó dentro del rango de variación obtenido por otros autores (desde 72,9 a 89,9%, Villamide y Fraga (1998)). La DFA subvalora en un 2.6% de media la digestibilidad de la PB, si se toma como referencia la DIV. Esta subvaloración es muy superior (11.4% de media) cuando la unidad de valoración es la DIA y puede explicarse, en parte, por las mayores pérdidas endógenas a nivel ileal respecto a nivel fecal (3.2 vs. 2.5 g PB/d).

A efectos prácticos en la formulación de piensos, tan importante como el valor absoluto de digestibilidad es el valor relativo entre alimentos. Como se muestra en la Tabla 4, el valor relativo entre la harina de girasol 38 y 28 varió según la unidad de valoración utilizada. Las diferencias máximas (5 puntos) se obtuvieron al comparar los valores relativos de las digestibilidades ileales aparentes y las mínimas (1 punto), al corregir por pérdidas endógenas.

Tabla 4. Digestibilidad fecal aparente e ileal aparente y verdadera de la PB (%) de las harinas de girasol y los valores relativos (%) respecto a la harina de girasol 38

Materias primas	Girasol 28		Girasol 38		SEM	P
	Absol.	Relat.	Absol.	Relat.		
Digestibilidad ileal verd. PB (%)	89.0	99	89.7	100	1.18	NS
Digestibilidad ileal apar. PB (%)	77.0	95	80.8	100	1.83	NS
Digestibilidad fecal apar. PB (%)	85.8	98	87.7	100	1.57	NS

Experimento 2

La DFA y DIA de la MS y de la PB de las dietas de productos de soja se presentan en la Tabla 5. Se encontraron diferencias significativas entre las tres dietas tanto en la DIA de la MS ($P=0.0008$), como de la PB ($P=0.0001$), presentando los valores más altos el pienso de harina y los más bajo el de cascarilla de soja.

Tabla 5. Digestibilidad ileal aparente (%) de la MS y de la PB de las dietas de productos de soja

Dietas	Harina soja	Haba soja	Cascarilla soja	SEM	P
N	9	10	8		
Consumo MS (g/d)	108.0 ^b	118.6 ^b	148.2 ^a	8.77	0.0128
Digestibilidad ileal aparente MS (%)	54.9 ^a	50.5 ^b	46.3 ^c	1.35	0.0008
Digestibilidad ileal aparente PB (%)	73.3 ^a	70.0 ^b	66.1 ^c	0.93	0.0001

La digestibilidad ileal media aparente y verdadera de la proteína de la harina y del haba de soja (Tabla 6) resultó muy superior ($P=0.0001$) a la de la cascarilla de soja (93.0 vs. 46.5 en DIA y 85.3 vs. 23.9, en DIV). Las diferencias entre alimentos se explican por una mayor indigestibilidad de la PB situada en la cubierta de la semilla respecto a la proteína concentrada en el interior de la misma, debido a que un 42% de la proteína de la cascarilla de soja está ligada a FND (García et al., 1997). El contenido en PB de la cascarilla utilizada en este trabajo era elevado y, por tanto, debía contener una mayor proporción de proteína del cotiledón. Si ésta no fue tratada térmicamente puede producir valores de digestibilidad más bajos de los esperados al contener factores antinutritivos. No existen datos en la bibliografía de digestibilidad ileal de productos de soja en conejos, pero los datos de digestibilidad ileal estandarizada obtenidos en cerdos (87, 83 y 57% para la harina, haba y cascarilla de soja, respectivamente, INRA (2002)) confirman las tendencias encontradas en este trabajo.

Las diferencias entre alimentos en DIA fueron superiores a las encontradas al corregir por pérdidas endógenas, ya que el coeficiente de DIA subestima la digestibilidad de la PB. Esta penalización resultó mayor en el caso de la cascarilla de soja, pues la corrección por pérdidas endógenas pesa más al tener menor contenido en proteína que las otras materias primas. Así pues, tomando la harina de soja como referencia, el valor relativo del haba de soja y la cascarilla de soja aumentó en 3 y 22 puntos, respectivamente, al pasar de DIA a DIV.

Tabla 6. Digestibilidad ileal aparente y verdadera de la PB (%) de los productos de soja y sus valores relativos (%) respecto a la harina de soja

Materias primas	Harina		Haba		Cascarilla		SEM	P
	Abs.	Relat.	Abs.	Relat.	Abs.	Relat.		
Digestibilidad ileal verd. PB (%)	94.5 ^a	100	91.5 ^a	97	46.5 ^b	49	0.89	0.0001
Digestibilidad ileal ap. PB (%)	87.7 ^a	100	82.8 ^a	94	23.9 ^b	27	2.67	0.0001

La DIA y DIV de la PB de la harina de soja resultó significativamente superior ($P=0.0003$ y $P=0.0158$, respectivamente para cada unidad) a la de la harina de girasol 38 en 6 puntos de media.

Los resultados de este trabajo coinciden en que el uso de los métodos de digestibilidad fecal e ileal aparentes subvaloran la digestibilidad de la proteína, respecto a la digestibilidad ileal verdadera. Dicha subvaloración resulta cuantitativamente más importante en aquellos alimentos de contenido medio o bajo en proteína o en aquellos en los que la proteína puede estar parcialmente ligada a la fibra. Además la digestibilidad de la PB depende del origen botánico y del procesado de la semilla.

■ BIBLIOGRAFÍA

- ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. 2000. *Official Methods of Analysis*, 17th edition. AOAC, Gaithersburg, MD.
- DE BLAS J.C. y MATEOS G.G. 1998. Feed formulation. In *The Nutrition of the rabbit* (ed. J.C. de Blas and J. Wiseman), pp. 241-253. Commonwealth Agricultural Bureaux, Wallingford.
- GARCIA A.I., DE BLAS J.C. y CARABAÑO R. 2004. Effect of type of diet (casein-based or protein-free diet, and caecotrophy on ileal endogenous nitrogen and amino acid flow in rabbits. *Animal Science* 79:231-240.
- GARCIA A.I., DE BLAS J. C. y CARABAÑO R. 2005. Comparison of different units for nitrogen and amino acids evaluation in rabbit diets. *Animal Science* (en prensa).
- GARCÍA J., VILLAMIDE M.J. y DE BLAS J.C. 1997. Energy; protein and fibre digestibility of soya bean hulls for rabbits. *World Rabbit Science* 5 (3):111-113.
- GIDENNE T., BOUYSSOU T. y RUCKEBUSCH Y. 1988. Sampling of digestive contents by ileal cannulation in the rabbit. *Animal Production* 46:147-151.
- INSTITUT NATIONAL DE LA RECHERCHE AGRONOMIQUE. 2002. *Tables de composition et de valeur nutritive des matières premières destinées aux animaux d'élevage*. INRA. Paris.
- LICITRA G., HERNÁNDEZ T.M. y VAN SOEST P.J. 1996. Standardization of procedures for nitrogen fractionation at ruminant feed. *Animal Feed Science and Technology* 57:347-358.
- LLORENTE A., GARCÍA A.I., NICODEMUS N., VILLAMIDE M.J. y CARABAÑO R. 2005. *Utilización de una nueva metodología para la determinación de la digestibilidad ileal aparente y real en la valoración nitrogenada de harina de girasol en conejos*. ITEA (en prensa).
- MERINO J.M. y CARABAÑO R. 2003. Efecto de la cecotrofia sobre la composición química de la digesta y sobre la digestibilidad ileal. *ITEA*, Vol. Extra 24 (II), 657-659.
- STATISTICAL ANALYSIS SYSTEM INSTITUTE. 1990. *User's guide, version 6*, fourth edition. SAS Institute Inc., Cary, NC.
- VILLAMIDE M.J. y FRAGA M.J. 1998. Prediction of the digestible crude protein and protein digestibility of feed ingredients for rabbits from chemical analysis. *Anim. Feed Sci. Technol.* 70:211-224.